

(19)



**Евразийское  
патентное  
ведомство**

(21) **202491295** (13) **A1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**

(43) Дата публикации заявки  
**2024.10.31**

(51) Int. Cl. *C12N 15/113* (2010.01)  
*A61K 31/713* (2006.01)  
*A61P 1/16* (2006.01)

(22) Дата подачи заявки  
**2020.12.14**

---

(54) **КОМПОЗИЦИИ, СОДЕРЖАЩИЕ РНК БЕЛКА 3, СОДЕРЖАЩЕГО ПАТАТИНПОДОБНЫЙ ФОСФОЛИПАЗНЫЙ ДОМЕН (PNPLA3), И СПОСОБЫ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ**

---

(31) **62/948,445; 63/040,602**

(32) **2019.12.16; 2020.06.18**

(33) **US**

(62) **202291812; 2020.12.14**

(71) Заявитель:  
**ЭЛНИЛЭМ ФАРМАСЬЮТИКАЛЗ,  
ИНК. (US)**

(72) Изобретатель:  
**Тремблэй Фредерик, Макининч  
Джеймс Д., Касторено Адам, Шлегель  
Марк К., Каиттанис Чараламбос (US)**

(74) Представитель:  
**Медведев В.Н. (RU)**

---

(57) Настоящее изобретение относится к РНКи агентам (агентам РНК-интерференции), например агентам на основе двухцепочечной РНК (дсРНК), нацеленным на ген белка 3, содержащего пататинподобный фосфолипазный домен (PNPLA3). Изобретение также относится к способам применения таких РНКи агентов (агентов РНК-интерференции) для ингибирования экспрессии гена PNPLA3 и к способам профилактики и лечения расстройств, ассоциированных с PNPLA3, например неалкогольной жировой болезни печени (NAFLD).

**A1**

**202491295**

**202491295**

**A1**

## **КОМПОЗИЦИИ, СОДЕРЖАЩИЕ ИРНК БЕЛКА 3, СОДЕРЖАЩЕГО ПАТАТИН-ПОДОБНЫЙ ФОСФОЛИПАЗНЫЙ ДОМЕН, (PNPLA3) И СПОСОБЫ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ**

Родственные заявки

По этой заявке испрашивается приоритет временной заявки на патент США № 62/948445, поданной 16 декабря 2019 г., и временной заявки на патент США № 63/040602, поданной 18 июня 2020 г. Полное содержание каждой из указанных выше заявок включены в настоящее описание в качестве ссылки.

### **Список последовательностей**

Настоящая заявка содержит Список последовательностей, представленный в электронном виде в формате ASCII, содержание которого полностью включено в настоящее описание посредством ссылки. Упомянутая копия ASCII, созданная 3 декабря, имеет название 121301-10620\_SL.txt и размер 1 097 169 байт.

### **Предпосылки к созданию изобретения**

Накопление избыточных триглицеридов в печени известно как стеатоз печени (или жировая дистрофия печени) и связано с неблагоприятными метаболическими последствиями, включая резистентность к инсулину и дислипидемию. Жировая печень часто обнаруживается у лиц, злоупотребляющих алкоголем, а также у лиц, страдающих ожирением, диабетом или гиперлипидемией. Однако даже при отсутствии чрезмерного употребления алкоголя (>10 г/сут) может развиваться неалкогольная жировая болезнь печени (NAFLD). NAFLD относится к широкому спектру заболеваний печени, способных прогрессировать от простого жирового гепатоза (стеатоза) до неалкогольного стеатогепатита (NASH) и цирроза (необратимое прогрессирующее рубцевание печени). Общим для всех стадий NAFLD является накопление жиров (жировая инфильтрация) в клетках печени (гепатоцитах).

Спектр NAFLD начинается и прогрессирует, начиная с самой простой стадии, называемой простой жировой дистрофией печени (стеатозом). Простая жировая дистрофия печени включает накопление жира (триглицеридов) в клетках печени без воспаления (гепатит) или рубцевания (фиброз). Следующей стадией и степенью тяжести в спектре NAFLD является NASH, включающая как накопление жира в клетках печени, так и воспаление печени. Воспалительные клетки разрушают клетки печени (гепатоцеллюлярный некроз), и NASH в конечном итоге приводит к рубцеванию печени (фиброзу), за которым следует необратимое прогрессирующее рубцевание (цирроз). Цирроз, вызванный NASH, является последней и наиболее тяжелой стадией в спектре NAFLD.

В 2008 году в рамках полногеномного ассоциативного исследования людей с помощью протонной магнитно-резонансной спектроскопии печени для оценки содержания жира в печени была выявлена значительная связь между содержанием жира в печени и геном белка 3, содержащего пататин-подобный фосфолипазный домен,

(PNPLA3) (см., например, Romeo *et al.* (2008) *Nat. Genet.*, 40(12):1461-1465). Исследования на нокаут-ин мышах показали, что экспрессия полиморфной последовательности (rs738409, I148M) PNPLA3 вызывает NAFLD и что накопление каталитически неактивного PNPLA3 на поверхности липидных капель связано с накоплением триглицеридов в печени (Smagris *et al.* (2015)) *Hepatology*, 61:108-118). В частности, вариант I148M PNPLA3 связан со стимулированием развития фиброгенеза путем активации сигнального пути hedgehog (Hh), что приводит к активации и пролиферации звездчатых клеток печени и чрезмерному образованию и отложению внеклеточного матрикса (Chen *et al.* (2015) *World J. Gastroenterol.*, 21(3):794-802).

В настоящее время лечение NAFLD направлено на снижение массы тела и лечение любых вторичных состояний, таких как резистентность к инсулину или дислипидемия. На сегодняшний день не существует апробированных фармакологических методов лечения NAFLD. Следовательно, существует потребность в терапии субъектов, страдающих NAFLD.

### **Сущность изобретения**

Настоящее изобретение относится к композициям иРНК, которые воздействуют на расщепление РНК-транскриптов гена, кодирующего белок 3, содержащий пататин-подобный фосфолипазный домен (PNPLA3), опосредованное РНК - индуцируемым комплексом сайленсинга (RISC). Белок 3, содержащий пататин-подобный фосфолипазный домен (PNPLA3), может находиться внутри клетки, например, клетки субъекта, такого как человек.

В одном аспекте изобретение относится к средству на основе двухцепочечной рибонуклеиновой кислоты (дсРНК) для ингибирования экспрессии белка 3, содержащего пататин-подобный фосфолипазный домен (PNPLA3), в клетке, где средство на основе дсРНК содержит смысловую цепь и антисмысловую цепь, образующие двухцепочечную область, где смысловая цепь содержит по меньшей мере 15, например, 15, 16, 17, 18, 19 или 20 смежных нуклеотидов, отличаясь не более чем на 0, 1, 2 или 3 нуклеотида от нуклеотидной последовательности SEQ ID NO:1, и где антисмысловая цепь содержит по меньшей мере 15, например, 15, 16, 17, 18, 19 или 20 смежных нуклеотидов, отличаясь не более чем на 1, 2 или 3 нуклеотида от нуклеотидной последовательности SEQ ID NO:2. В одном варианте осуществления средство на основе дсРНК содержит по меньшей мере одну термически дестабилизирующую модификацию нуклеотида, например абазическую модификацию; мисматч (несовпадение) с противоположным нуклеотидом в дуплексе; дестабилизирующую модификацию сахара, 2'-дезоксимодификацию, ациклический нуклеотид, разблокированную нуклеиновую кислоту (UNA) или глицериновую нуклеиновую кислоту (GNA), то есть смысловая цепь содержит по меньшей мере одну термодестабилизирующую модификацию нуклеотида.

В другом аспекте настоящее изобретение относится к двухцепочечной рибонуклеиновой кислоте (дсРНК) для ингибирования экспрессии белка 3, содержащего пататин-подобный фосфолипазный домен, (PNPLA3), в клетке, где указанная дсРНК

содержит смысловую цепь и антисмысловую цепь, образующую двухцепочечную область, при этом антисмысловая цепь содержит область комплементарности к мРНК, кодирующей белок 3, содержащий пататин-подобный фосфолипазный домен, (PNPLA3), и при этом область комплементарности содержит по меньшей мере 15, например, 15, 16, 17, 18, 19 или 20 смежных нуклеотидов, отличающиеся не более чем на 0, 1, 2 или 3 нуклеотида от любой из антисмысловых нуклеотидных последовательностей в любой из Таблиц 2-11, 21, 24, 27, 30, 32, 33, 36, 37, 49 или 50.

В одном аспекте настоящее изобретение относится к двухцепочечной рибонуклеиновой кислоте (дсРНК) для ингибирования экспрессии белка 3, содержащего пататин-подобный фосфолипазный домен, (PNPLA3), в клетке, где указанная дсРНК содержит смысловую цепь и антисмысловую цепь, образующие двухцепочечную область, где смысловая цепь содержит по меньшей мере 15, например, 15, 16, 17, 18, 19 или 20 смежных нуклеотидов, отличаясь не более чем на 0, 1, 2 или 3 нуклеотида от любой из нуклеотидных последовательностей нуклеотидов 677-721; 683-721; 773-817; 1185-1295; 1185-1241; 1202-1295; 1202-1241; 1255-1295; 1738-1792; 1901-1945; 1920-1945; 2108-2208; 2108-2166; 2108-2136, 2121-2166; 2121-2208; 2169-2208; 2176-2208; или 2239-2265 нуклеотидной последовательности SEQ ID NO:1, и где антисмысловая цепь содержит по меньшей мере 19 смежных нуклеотидов из соответствующей нуклеотидной последовательности SEQ ID NO:2.

В одном аспекте настоящее изобретение относится к двухцепочечной рибонуклеиновой кислоте (дсРНК) для ингибирования экспрессии белка 3, содержащего пататин-подобный фосфолипазный домен, (PNPLA3), в клетке, где указанная дсРНК содержит смысловую цепь и антисмысловую цепь, образующие двухцепочечную область, где смысловая цепь содержит по меньшей мере 15, например, 15, 16, 17, 18, 19 или 20 смежных нуклеотидов, отличаясь не более чем на 0, 1, 2 или 3 нуклеотида от любой из нуклеотидных последовательностей нуклеотидов 574-596; 677-699; 683-705; 699-721; 773-795; 795-817; 1185-1207; 1192-1214; 1202-1224; 1208-1230; 1209-1231; 1210-1232; 1211-1233; 1212-1234; 1213-1233; 1214-1234; 1214-1236; 1215-1237; 1216-1238; 1219-1237; 1219-1241; 1255-1275; 1256-1276; 1257-1275; 1257-1277; 1258-1278; 1259-1279; 1260-1278; 1260-1280; 1261-1281; 1262-1282; 1263-1283; 1264-1282; 1264-1284; 1265-1285; 1267-1285; 1266-1286; 1266-1288; 1267-1285; 1267-1287; 1268-1290; 1269-1289; 1270-1290; 1271-1291; 1272-1292; 1273-1293; 1274-1294; 1275-1295; 1631-1653; 1738-1760; 1739-1761; 1740-1760; 1740-1762; 1741-1763; 1744-1766; 1746-1766; 1750-1772; 1751-1773; 1752-1774; 1753-1775; 1754-1776; 1755-1777; 1756-1778; 1757-1779; 1758-1780; 1759-1781; 1760-1782; 1761-1783; 1762-1782; 1762-1784; 1763-1785; 1764-1786; 1765-1787; 1766-1786; 1766-1788; 1767-1787; 1768-1788; 1767-1789; 1769-1789; 1770-1788; 1770-1790; 1771-1791; 1772-1792; 1815-1837; 1901-1923, 1920-1942, 1923-1945; 2112-2130; 2169-2191; 2171-2191; 2176-2198, 2177-2199, 2178-2200; 2179-2201, 2180-2202; 2181-2203; 2183-2205; 2184-2206; 2186-2208; 2239-2261; 2241-2263; 2242-2264; или 2243-2265 нуклеотидной последовательности SEQ ID NO:1, а антисмысловая цепь содержит по меньшей мере 19 смежных нуклеотидов из



соответствующей нуклеотидной последовательности SEQ ID NO:2.

В одном варианте осуществления антисмысловая цепь содержит по меньшей мере 15, например, 15, 16, 17, 18, 19 или 20 смежных нуклеотидов, отличаясь не более чем на 0, 1, 2 или 3 нуклеотида от любой из антисмысловых цепей нуклеотидной последовательности дуплекса, выбранного из группы, состоящей из AD-517197.2; AD-517258.2; AD-516748.2; AD-516851.2; AD-519351.2; AD-519754.2; AD-519828.2; AD-520018.2; AD-520035.2; AD-520062.2; AD-520064.2; AD-520065.2; AD-520067.2; AD-75289.2; AD-520069.2; AD-520099.2; AD-67575.7; AD-520101.2; AD-67605.7; AD-1193323.1; AD-1193344.1; AD-1193350.1; AD-1193365.1; AD-1193379.1; AD-1193407.1; AD-1193421.1; AD-1193422.1; AD-1193429.1; AD-1193437.1; AD-1193443.1; AD-1193471.1; и AD-1193481.1.

В одном варианте осуществления антисмысловая цепь содержит по меньшей мере 15, например, 15, 16, 17, 18, 19 или 20 смежных нуклеотидов, отличаясь не более чем на 0, 1, 2 или 3 нуклеотида от любой из антисмысловых цепей нуклеотидной последовательности дуплекса, выбранного из группы, состоящей из AD-519345.1, AD-519346.1, AD-519347.1, AD-67554.7, AD-519752.3, AD-1010731.1, AD-1010732.1, AD-519343.1, AD-519344.1, AD-519349.1, AD-519350.1, AD-519753.2, AD-519932.1, AD-519935.2, AD-520018.6, AD-517837.2, AD-805635.2, AD-519329.2, AD-520063.2, AD-519757.2, AD-805631.2, AD-516917.2, AD-516828.2, AD-518983.2, AD-805636.2, AD-519754.7, AD-520062.2, AD-67575.9, AD-518923.3, AD-520053.4, AD-519667.2, AD-519773.2, AD-519354.2, AD-520060.4, AD-520061.4, AD-1010733.2, AD-1010735.2; AD-1193323.1; AD-1193344.1; AD-1193350.1; AD-1193365.1; AD-1193379.1; AD-1193407.1; AD-1193421.1; AD-1193422.1; AD-1193429.1; AD-1193437.1; AD-1193443.1; AD-1193471.1; и AD-1193481.1.

В одном аспекте настоящее изобретение относится к двухцепочечной рибонуклеиновой кислоте (дсРНК) для ингибирования экспрессии белка 3, содержащего пататин-подобный фосфолипазный домен, (PNPLA3), в клетке, где дсРНК содержит смысловую цепь и антисмысловую цепь, образующие двухцепочечную область, где смысловая цепь содержит по меньшей мере 15 последовательных нуклеотидов, отличаясь не более чем на три нуклеотида от любой из последовательностей нуклеотидов 1200-1250, 1205-1250, 11210-1250, 1200-1245, 1200-1240, 1200-1235, 1200-1237, 1205-1237, 1210-1232, 1212-1237, 1212-1234, 1250-1300, 1255-1300, 1260-1300, 1250-1295, 1250-1390, 1250-1285, 1250-1282, 1255-1282, 1260-1282, 1262-1300, 1262-1295, 1262-1390 и 1262-1282 SEQ ID NO: 1, а антисмысловая цепь содержит по меньшей мере 15 смежных нуклеотидов из соответствующей нуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 2.

В одном варианте осуществления антисмысловая цепь содержит по меньшей мере 15, например, 15, 16, 17, 18, 19 или 20 смежных нуклеотидов, отличаясь не более чем на 0, 1, 2 или 3 нуклеотида от любой из антисмысловых цепей нуклеотидных последовательностей дуплекса, выбранной из группы, состоящей из AD-519345, AD-1193350, AD-1193365, AD-1193437 и AD-519347.

В одном варианте осуществления антисмысловая цепь содержит по меньшей мере 15, например, 15, 16, 17, 18, 19 или 20 смежных нуклеотидов, отличаясь не более чем на 0, 1, 2 или 3 нуклеотида от нуклеотидной последовательности антисмысловой цепи дуплекса AD-519351.

В одном варианте осуществления антисмысловая цепь содержит по меньшей мере 15, например, 15, 16, 17, 18, 19 или 20 смежных нуклеотидов, отличаясь не более чем на 0, 1, 2 или 3 нуклеотида от нуклеотидной последовательности антисмысловой цепи дуплекса AD-1193350.

В одном варианте осуществления антисмысловая цепь содержит по меньшей мере 15, например, 15, 16, 17, 18, 19 или 20 смежных нуклеотидов, отличаясь не более чем на 0, 1, 2 или 3 нуклеотида от нуклеотидной последовательности антисмысловой цепи дуплекса AD-1193365.

В одном варианте осуществления антисмысловая цепь содержит по меньшей мере 15, например, 15, 16, 17, 18, 19 или 20 смежных нуклеотидов, отличаясь не более чем на 0, 1, 2 или 3 нуклеотида от нуклеотидной последовательности антисмысловой цепи дуплекса AD-1193437.

В одном варианте осуществления антисмысловая цепь содержит по меньшей мере 15, например, 15, 16, 17, 18, 19 или 20 смежных нуклеотидов, отличающихся не более чем на 0, 1, 2 или 3 нуклеотида от нуклеотидной последовательности антисмысловой цепи дуплекса AD-519347.

В одном варианте осуществления средство на основе дсРНК содержит по меньшей мере один модифицированный нуклеотид.

В одном варианте осуществления по существу все нуклеотиды смысловой цепи; по существу все нуклеотиды антисмысловой цепи содержат модификацию; или по существу все нуклеотиды смысловой цепи и по существу все нуклеотиды антисмысловой цепи содержат модификацию.

В одном варианте осуществления все нуклеотиды смысловой цепи содержат модификацию; все нуклеотиды антисмысловой цепи содержат модификацию; или все нуклеотиды смысловой цепи и все нуклеотиды антисмысловой цепи содержат модификацию.

В одном варианте осуществления по меньшей мере один из модифицированных нуклеотидов выбран из группы, состоящей из дезоксинуклеотида, 3'-концевого дезокситиминового (dT) нуклеотида, 2'-О-метилмодифицированного нуклеотида, 2'-фтормодифицированного нуклеотида, 2'-дезоксимодифицированного нуклеотида, заблокированного нуклеотида, разблокированного нуклеотида, конформационно-ограниченного нуклеотида, ограниченного (недоступного) этилового нуклеотида, абазического нуклеотида, 2'-аминомодифицированного нуклеотида, 2'-О-аллилмодифицированного нуклеотида, 2'-С-алкилмодифицированного нуклеотида, 2'-гидрокси-модифицированного нуклеотида, 2'-метоксиэтилмодифицированного нуклеотида, 2'-О-алкилмодифицированного нуклеотида, морфолинонуклеотида,

фосфорамидата, нуклеотида с неприродным основанием, тетрагидропиран-модифицированного нуклеотида, 1,5-ангидрогекситол-модифицированного нуклеотида, циклогексенил-модифицированного нуклеотида, нуклеотида, содержащего фосфоротиоатную группу, нуклеотида, содержащего метилфосфонатную группу, нуклеотида, содержащего 5'-фосфат, нуклеотида, содержащего миметик 5'-фосфата, термически дестабилизирующего нуклеотида, гликоль-модифицированного нуклеотида (GNA), и 2-O-(N-метилацетамид)-модифицированного нуклеотида; и комбинации таковых.

В одном варианте модификации нуклеотидов выбирают из группы, состоящей из LNA, HNA, CeNA, 2'-метоксиэтила, 2'-О-алкила, 2'-О-аллила, 2'-С-аллила, 2'-О-аллила, 2'-фторо, 2'-дезоксид, 2'-гидроксил и гликоля; и комбинаций таковых.

В одном варианте осуществления по меньшей мере один из модифицированных нуклеотидов выбран из группы, состоящей из дезоксинуклеотида, 2'-О-метилмодифицированного нуклеотида, 2'-фтормодифицированного нуклеотида, 2'-дезоксимодифицированного нуклеотида, нуклеотида, модифицированный гликолем (GNA), например, Ggn, Cgn, Tgn или Agn, и винилфосфонатного нуклеотида; и комбинаций таковых.

В другом варианте осуществления по меньшей мере одна из модификаций нуклеотидов является термически дестабилизирующей модификацией нуклеотидов.

В одном варианте осуществления термически дестабилизирующая модификация нуклеотида выбрана из группы, состоящей из абазической модификации; мисматча (несовпадения) с противоположным нуклеотидом в дуплексе; и дестабилизирующей модификации сахара, 2'-дезоксимодификации, ациклического нуклеотида, разблокированных нуклеиновых кислот (UNA) и глицериновой нуклеиновой кислоты (GNA).

В некоторых вариантах осуществления модифицированный нуклеотид содержит короткую последовательность 3'-концевых дезокситиминовых нуклеотидов (dT).

В некоторых вариантах осуществления модификации нуклеотидов представляют собой модификации 2'-О-метил, GNA и 2'-фторо.

В некоторых вариантах осуществления средство на основе дсРНК дополнительно содержит по меньшей мере одну фосфоротиоатную межнуклеотидную связь. В некоторых вариантах осуществления средство на основе дсРНК содержит 6-8 фосфоротиоатных межнуклеотидных связей. В одном варианте осуществления фосфоротиоатная или метилфосфонатная межнуклеотидная связь находится на 3'-конце одной из цепей. Необязательно цепь представляет собой антисмысловую цепь. В другом варианте осуществления цепь представляет собой смысловую цепь. В родственном варианте осуществления фосфоротиоатная или метилфосфонатная межнуклеотидная связь находится на 5'-конце одной из цепей. Необязательно цепь представляет собой антисмысловую цепь. В другом варианте осуществления цепь представляет собой смысловую цепь. В другом варианте осуществления фосфоротиоатная или

метилфосфонатная межнуклеотидная связь находится как на 5'-, так и на 3'-конце одной из цепей. Необязательно цепь представляет собой антисмысловую цепь. В другом варианте осуществления цепь представляет собой смысловую цепь.

Двухцепочечный участок может иметь длину 19-30 пар нуклеотидов, длину 19-25 пар нуклеотидов, длину 19-23 пар нуклеотидов; 23-27 пар нуклеотидов; или 21-23 пары нуклеотидов.

В одном варианте осуществления каждая цепь независимо имеет длину не более 30 нуклеотидов.

В одном варианте осуществления смысловая цепь имеет длину в 21 нуклеотид, а антисмысловая цепь имеет длину в 23 нуклеотида.

Область комплементарности может иметь длину не менее 17 нуклеотидов; длину от 19 до 23 нуклеотидов; или длину в 19 нуклеотидов.

В одном варианте осуществления по меньшей мере одна из цепей содержит выступающий 3'-конец по меньшей мере из 1 нуклеотида. В другом варианте осуществления по меньшей мере одна из цепей содержит выступающий 3'-конец по меньшей мере из 2 нуклеотидов.

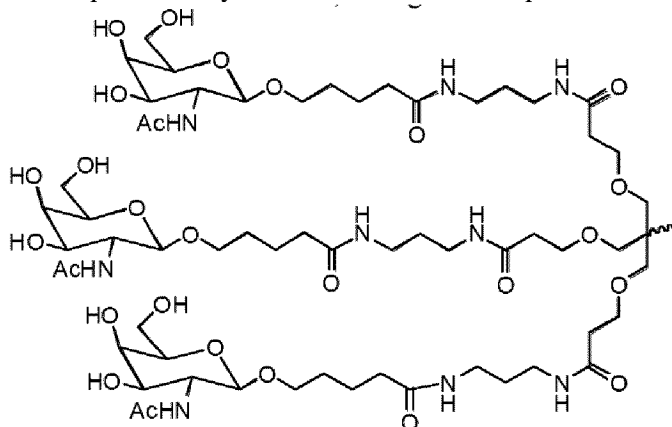
В одном варианте осуществления средство на основе дсРНК дополнительно содержит лиганд.

В одном варианте осуществления лиганд конъюгирован с 3'-концом смысловой цепи средства на основе дсРНК.

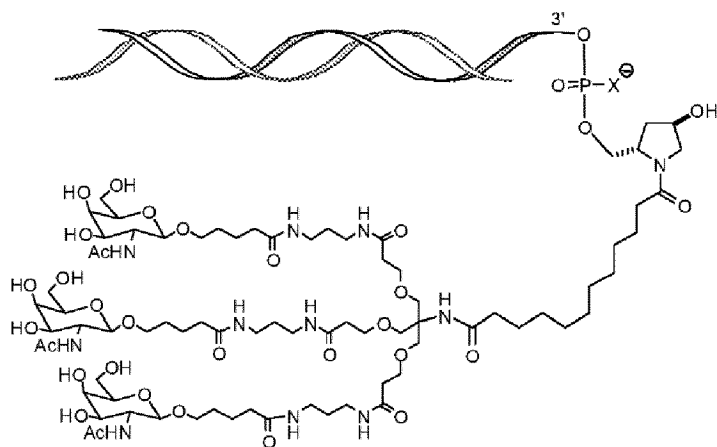
В одном варианте осуществления лиганд представляет собой производное N-ацетилгалактозамина (GalNAc).

В одном варианте осуществления лиганд представляет собой одно или более производных GalNAc, присоединенных через одновалентный, двухвалентный или трехвалентный разветвленный линкер.

В одном варианте осуществления лиганд представляет собой



В одном варианте осуществления средство на основе дсРНК конъюгирован с лигандом, как показано на следующей схеме.



где X представляет собой O или S.

В одном варианте осуществления X представляет собой O.

В одном варианте осуществления средство на основе дсРНК дополнительно содержит по меньшей мере одну фосфоротиоатную или метилфосфонатную межнуклеотидную связь.

В одном варианте осуществления фосфоротиоатная или метилфосфонатная межнуклеотидная связь находится на 3'-конце одной из цепей, например, антисмысловой цепи или смысловой цепи.

В другом варианте осуществления фосфоротиоатная или метилфосфонатная межнуклеотидная связь находится на 5'-конце одной из цепей, например, антисмысловой цепи или смысловой цепи.

В одном варианте осуществления фосфоротиоатная или метилфосфонатная межнуклеотидная связь находится как на 5'-, так и на 3'-конце одной из цепей. В одном варианте осуществления цепь представляет собой антисмысловую цепь.

В одном варианте осуществления пара оснований в положении 1 5'-конца антисмысловой цепи дуплекса представляет собой пару оснований AU.

Настоящее изобретение также относится к клеткам, содержащим любой из средств на основе дсРНК по изобретению и фармацевтическим композициям, содержащим любой из средств на основе дсРНК по изобретению.

Фармацевтическая композиция по изобретению может включать средство на основе дсРНК в незабуференном растворе, например, физиологическом растворе или воде, или фармацевтическая композиция по изобретению может включать средство на основе дсРНК в буферном растворе, например, в буферном растворе, содержащем ацетат, цитрат, проламин, карбонат или фосфат или любую комбинацию таковых; или в фосфатно-солевом буфере (PBS).

В одном аспекте настоящее изобретение относится к способу ингибирования экспрессии гена белка 3, содержащего пататин-подобный фосфолипазный домен (PNPLA3), в клетке. Способ включает приведение клетки в контакт с любой из дсРНК по изобретению или с любой из фармацевтических композиций по изобретению, ингибирующих экспрессию гена PNPLA3 в клетке.

В одном варианте осуществления клетка находится внутри субъекта, например, человека, например, субъекта, страдающего расстройством, связанным с белком 3, содержащим пататин-подобный фосфолипазный домен (PNPLA3), таким как заболевание, ассоциированное с белком 3, содержащим пататин-подобный фосфолипазный домен (PNPLA3), и выбранное из группы, состоящей из жировой дистрофии печени (стеатоза), неалкогольного стеатогепатита (NASH), цирроза печени, накопления жира в печени, воспаления печени, гепатоцеллюлярного некроза, фиброза печени, ожирения или неалкогольной жировой болезни печени (NAFLD).

В одном варианте осуществления контакт клетки с агентом дсРНК ингибирует экспрессию PNPLA3 по меньшей мере на 50%, 60%, 70%, 80%, 90% или 95%.

В одном варианте ингибирование экспрессии PNPLA3 снижает уровень белка PNPLA3 в сыворотке субъекта по меньшей мере на 50%, 60%, 70%, 80%, 90% или 95%.

В одном аспекте настоящее изобретение относится к способу лечения субъекта, страдающего расстройством, при котором было бы полезно снижение экспрессии белка 3, содержащего пататин-подобный фосфолипазный домен (PNPLA3). Способ включает введение субъекту терапевтически эффективного количества любой из двухцепочечных РНК (дсРНК) по изобретению или любой из фармацевтических композиций по изобретению, что тем самым способствует излечению субъекта, страдающего расстройством, для которого было бы полезно снижение экспрессии PNPLA3.

В другом аспекте настоящее изобретение относится к способу предотвращения по меньшей мере одного симптома у субъекта, страдающего заболеванием, при котором было бы полезно снижение экспрессии белка 3, содержащего пататин-подобный фосфолипазный домен (PNPLA3). Способ включает введение субъекту профилактически эффективного количества любой из двухцепочечных РНК (дсРНК) по изобретению или любой из фармацевтических композиций по изобретению, что тем самым предотвращает по меньшей мере один симптом у субъекта, страдающего расстройством, при котором было бы полезно снижение экспрессии PNPLA3.

В одном варианте осуществления расстройство представляет собой расстройство, связанное с белком 3, содержащим пататин-подобный фосфолипазный домен (PNPLA3), например, расстройство, связанное с белком 3, содержащим пататин-подобный фосфолипазный домен (PNPLA3), выбранное из группы, состоящей из жировой дистрофии печени (стеатоза), неалкогольного стеатогепатита (NASH), цирроза печени, накопления жира в печени, воспаления печени, гепатоцеллюлярного некроза, фиброза печени, ожирения или неалкогольной жировой болезни печени (NAFLD).

В одном варианте осуществления расстройство, связанное с PNPLA3, представляет собой NAFLD.

В одном варианте осуществления субъектом является человек.

В одном варианте осуществления средство на основе дсРНК вводят субъекту в дозе от примерно 0,01 мг/кг до примерно 50 мг/кг.

В одном варианте осуществления средство на основе дсРНК вводят субъекту

подкожно.

В одном варианте осуществления способы по изобретению включают дополнительное определение уровня PNPLA3 в образце(ах) субъекта.

В одном варианте осуществления уровень белка 3, содержащего пататин-подобный фосфолипазный домен (PNPLA3) в образце(ах) субъекта, представляет собой уровень белка 3, содержащего пататин-подобный фосфолипазный домен (PNPLA3) в образце(ах) крови или сыворотки.

В некоторых вариантах осуществления способы по изобретению дополнительно включают введение субъекту дополнительного терапевтического агента. В другом варианте осуществления дополнительное терапевтический агент выбран из группы, состоящей из ингибитора HMG-CoA -редуктазы, фибрата, секвестранта желчных кислот, ниацина, антитромбоцитарного средства, ингибитора ангиотензинпревращающего фермента, антагониста рецептора ангиотензина II, ингибитора ацил-КоА холестеринацетилтрансферазы (ACAT), ингибитора абсорбции холестерина, ингибитора белка-переносчика эфира холестерина (CETP), ингибитора микросомального белка-переносчика триглицеридов (MTTP), модулятора холестерина, модулятора желчных кислот, агониста рецептора, активируемого пролиферацией пероксисом (PPAR), генной терапии, комплексного васкулярного протектанта, ингибитора гликопротеина Пв/Ша, аспирина- или аспириноподобного соединения, ингибитора IBAT, ингибитора скваленсинтазы, ингибитора моноцитарного хемоаттрактантного белка (MCP)-I или рыбьего жира.

Настоящее изобретение также относится к наборам, включающим любую из дсРНК по изобретению или любую из фармацевтических композиций по изобретению, и, необязательно, инструкции по применению.

#### **Краткое описание чертежей**

**Фигура 1** представляет собой график, показывающий уровни человеческой мРНК PNPLA3 у мышей (n=3 в группе), которым подкожно вводили разовую дозу 3 мг/кг или 10 мг/кг указанных дуплексов дсРНК на 7-й или 14-й день после введения дозы. Уровни человеческой мРНК PNPLA3 показаны относительно контрольных уровней, обнаруженных при обработке PBS.

**Фигура 2** представляет собой график, показывающий уровни человеческой мРНК PNPLA3 у мышей (n=3 в группе), которым подкожно вводили разовую дозу указанных дуплексов дсРНК на 7-й день после введения дозы, как описано в Примере 3. Уровни человеческой мРНК PNPLA3 показаны относительно контрольных уровней, обнаруженных при обработке PBS.

**Фигура 3** представляет собой график, показывающий уровни человеческой мРНК PNPLA3 у мышей (n=3 в группе), которым подкожно вводили разовую дозу 10 мг/кг указанных дуплексов дсРНК на 7-й день после введения дозы. Уровни человеческой мРНК PNPLA3 показаны относительно контрольных уровней, обнаруженных при обработке PBS.

**Фигура 4** представляет собой график, показывающий уровни человеческой мРНК PNPLA3 у мышей (n=3 в группе), которым подкожно вводили одну дозу 10 мг/кг или несколько доз 10 мг/кг указанных дуплексов дсРНК на 7-й день после введения дозы, как описано в Примере 3. Уровни человеческой мРНК PNPLA3 показаны относительно контрольных уровней, обнаруженных при обработке PBS.

**Фигура 5** представляет собой график, показывающий уровни человеческой мРНК PNPLA3 у мышей (n=3 в группе), которым подкожно вводили однократную дозу 10 мг/кг указанных дуплексов дсРНК на 7-й день после введения дозы. Уровни мРНК PNPLA3 человека показаны относительно контрольных уровней, обнаруженных при обработке PBS.

**Фигура 6** представляет собой график, показывающий уровни человеческой мРНК PNPLA3 у мышей (n=3 в группе), которым подкожно вводили однократную дозу 10 мг/кг указанных дуплексов дсРНК на 7-й день после введения дозы. Уровни человеческой мРНК PNPLA3 показаны относительно контрольных уровней, обнаруженных при обработке PBS.

**Фигура 7** представляет собой график, показывающий уровни человеческой мРНК PNPLA3 у мышей (n=3 в группе), которым подкожно вводили однократную дозу 10 мг/кг указанных дуплексов дсРНК на 7-й день после введения дозы. Уровни мРНК PNPLA3 показаны относительно контрольных уровней, обнаруженных при обработке PBS.

#### **Подробное описание изобретения**

Настоящее изобретение относится к композициям иРНК, воздействующих на расщепление РНК-транскриптов гена белка 3, содержащего пататин-подобный фосфолипазный домен, (PNPLA3) опосредованное РНК - индуцируемым комплексом сайленсинга (RISC). Ген может находиться внутри клетки, например, клетки субъекта, такого как человек. Использование этих иРНК обеспечивает целенаправленную деградацию мРНК соответствующего гена (гена белка 3, содержащего пататин-подобный фосфолипазный домен, (PNPLA3)) у млекопитающих.

иРНК по изобретению были разработаны для нацеливания на ген белка 3 человека, содержащего патин-подобный фосфолипазный домен (PNPLA3), включая части гена, консервативные в ортологах белка 3 человека, содержащего патин-подобный фосфолипазный домен (PNPLA3), принадлежащих другим видам млекопитающих. Без ограничения теорией считается, что комбинация или субкомбинация вышеуказанных свойств и конкретных сайтов-мишеней или специфических модификаций в этих иРНК придают иРНК по изобретению повышенную эффективность, стабильность, активность, долговечность, и безопасность.

Соответственно, настоящее изобретение относится к способам лечения и профилактики заболеваний, связанных с белком 3, содержащим пататин-подобный фосфолипазный домен, (PNPLA3), например, таких как жировой гепатоз (стеатоз), неалкогольный стеатогепатит (NASH), цирроз печени, накопление жира в печени, воспаление печени, гепатоцеллюлярный некроз, фиброз печени, ожирение или



неалкогольная жировая болезнь печени (NAFLD) с использованием композиций иРНК, воздействующих на расщепление РНК-транскриптов гена PNPLA3, опосредованное РНК-индуцированным комплексом сайленсинга (RISC).

иРНК по изобретению включают цепь РНК (антисмысловую цепь), имеющую участок длиной примерно до 30 нуклеотидов или меньше, например, 19-30, 19-29, 19-28, 19-27, 19-26, 19-25, 19-24, 19-23, 19-22, 19-21, 19-20, 20-30, 20-29, 20-28, 20-27, 20-26, 20-25, 20-24, 20-23, 20-22, 20-21, 21-30, 21-29, 21-28, 21-27, 21-26, 21-25, 21-24, 21-23 или 21-длинной 22 нуклеотида, причем эта область по существу комплементарна по меньшей мере части транскрипта мРНК гена PNPLA3.

В некоторых вариантах осуществления одна или обе цепи двухцепочечных RNAi агентов по изобретению имеют длину до 66 нуклеотидов, например, 36-66, 26-36, 25-36, 31-60, 22-43, 27-53 нуклеотида в длину, с областью, состоящей по меньшей мере из 19 последовательных нуклеотидов, которая по существу комплементарна по меньшей мере части транскрипта мРНК гена PNPLA3. В некоторых вариантах осуществления такие иРНК агенты, имеющие более длинные антисмысловые цепи, предпочтительно могут включать вторую цепь РНК (смысловую цепь) длиной 20-60 нуклеотидов, где смысловая и антисмысловая цепи образуют дуплекс из 18-30 смежных нуклеотидов.

Использование иРНК по изобретению делает возможным целенаправленную деградацию мРНК соответствующего гена (гена PNPLA3) у млекопитающих. Используя анализы *in vitro*, авторы настоящего изобретения продемонстрировали, что иРНК, нацеленные на ген PNPLA3, могут эффективно регулировать RNAi, что приводит к значительному ингибированию экспрессии гена PNPLA3. Таким образом, способы и композиции, включающие эти иРНК, применимы для лечения субъекта, имеющего расстройство, связанное с PNPLA3, например, жировой гепатоз (стеатоз), неалкогольный стеатогепатит (NASH), цирроз печени, накопление жира в печени, воспаление печени, гепатоцеллюлярный некроз, фиброз печени, ожирение или неалкогольная жировая болезнь печени (NAFLD).

Соответственно, настоящее изобретение относится к способам и комбинированной терапии для лечения субъекта, страдающего заболеванием, при котором было бы полезно ингибировать или снижать экспрессию гена PNPLA3, например, заболеванием, ассоциированным с белком 3, содержащим пататин-подобный фосфолипазный домен (PNPLA3), такого как жировая дистрофия печени (стеатоз), неалкогольный стеатогепатит (NASH), цирроз печени, накопление жира в печени, воспаление печени, гепатоцеллюлярный некроз, фиброз печени, ожирение или неалкогольная жировая болезнь печени (NAFLD) при использовании композиций иРНК, влияющих на расщепление РНК-транскриптов гена PNPLA3 опосредованное РНК-индуцированным комплексом сайленсинга (RISC).

Настоящее изобретение также относится к способам для предотвращения по меньшей мере одного симптома у субъекта, страдающего заболеванием, при котором было бы полезно ингибировать или снижать экспрессию гена PNPLA3, таким как,

например, жировая дистрофия печени (стеатоз), неалкогольный стеатогепатит (NASH), цирроз печени, накопление жира в печени, воспаление печени, гепатоцеллюлярный некроз, фиброз печени, ожирение или неалкогольная жировая болезнь печени (NAFLD). Например, у субъекта, страдающего NAFLD, способы по настоящему изобретению могут уменьшить по меньшей мере один симптом, например усталость, слабость, потерю веса, потерю аппетита, тошноту, боль в животе, появление паукообразных кровеносных сосудов, пожелтение кожи и глаз (желтуха), зуд, скопление жидкости и отек ног (отек), вздутие живота (асцит) и спутанность сознания.

Следующее подробное описание раскрывает способы получения и применения композиций, содержащих иРНК, для ингибирования экспрессии гена PNPLA3, а также сами композиции, применения таковых и способы лечения субъектов, которым было бы полезно ингибирование и/или снижение экспрессии гена PNPLA3, например, субъектов, предрасположенные к расстройству, связанному с PNPLA3, или диагностированных таким заболеванием.

### **I. Определения**

Для облегчения понимания настоящего изобретения вначале даются определения некоторых терминов. Кроме того, следует отметить, что всякий раз, когда указывается значение или диапазон значений параметра, подразумевается, что значения и диапазоны, промежуточные по отношению к указанным значениям, также являются частью настоящего изобретения.

Формы единственного числа используются здесь для обозначения одного или более чем одного (т. е. по меньшей мере одного) грамматического объекта. Например, «элемент» означает один элемент или более одного элемента, например, множество элементов.

Термин «включая» используется здесь для обозначения фразы «включая, без ограничения таковым» и используется взаимозаменяемо с таковой.

Термин «или» используется здесь для обозначения «и/или», и используется взаимозаменяемо с термином «и/или», если контекст явно не указывает иное. Например, «смысловая цепь или антисмысловая цепь» понимается как «смысловая цепь или антисмысловая цепь или смысловая цепь и антисмысловая цепь».

Термин «примерно/приблизительно» используется здесь для обозначения допусков в пределах типичных диапазонов в данной области техники. Например, «примерно/приблизительно» можно понимать как около 2 стандартных отклонений от среднего значения. В некоторых вариантах осуществления «приблизительно» означает +10%. В некоторых вариантах осуществления «примерно» означает +5%. Когда «примерно/приблизительно» присутствует перед рядом чисел или диапазоном, подразумевается, что «примерно/приблизительно» может модифицировать каждое из чисел в ряду или диапазоне.

Термин «по меньшей мере» перед числом или серией чисел понимается как включающий число, соседнее с термином «по меньшей мере», и все последующие числа

или целые числа, которые могут быть включены логически, как понимается из контекста. Например, количество нуклеотидов в молекуле нуклеиновой кислоты должно быть целым числом. Например, «по меньшей мере 19 нуклеотидов из 21-нуклеотидной молекулы нуклеиновой кислоты» означает, что 19, 20 или 21 нуклеотид обладают указанным свойством. Когда «по меньшей мере» присутствует перед рядом чисел или диапазоном, подразумевается, что «по меньшей мере» может модифицировать каждое из чисел в ряду или диапазоне.

Используемые здесь термины «не более чем» или «менее» понимаются как значение, следующее за данной фразой, и означает логические меньшие значения или целые числа, по логике вытекающие из контекста, вплоть до нуля. Например, дуплекс с выступающим элементом «не более 2 нуклеотидов» имеет выступающий конец длиной в 2, 1 или 0 нуклеотидов. Когда «не более чем» присутствует перед рядом чисел или диапазоном, подразумевается, что «не более чем» может изменить каждое из чисел в ряду или диапазоне. Используемые здесь диапазоны включают как верхний, так и нижний предел.

Используемые здесь методы обнаружения могут включать определение того, что количество присутствующего анализируемого вещества ниже уровня обнаружения метода.

В случае конфликта между указанным сайтом-мишенью и нуклеотидной последовательностью смысловой или бессмысловой цепи указанная последовательность имеет приоритет.

В случае конфликта между последовательностью и ее указанным сайтом в транскрипте или другой последовательности приоритет имеет нуклеотидная последовательность, указанная в описании.

Используемый здесь термин «белок 3, содержащий пататин-подобный фосфолипазный домен», используемый взаимозаменяемо с термином «PNPLA3», относится к хорошо известному гену, кодирующему триацилглицероллипазу, опосредующую гидролиз триацилглицерина в адипоцитах.

Типовые нуклеотидные и аминокислотные последовательности PNPLA3 можно найти, например, в GenBank, следующим образом: номер доступа NM\_025225.2 (*Homo sapiens* PNPLA3; SEQ ID NO:1; комплементарная цепь: SEQ ID NO:2); номер доступа GenBank NM\_054088.3 (*Mus musculus* PNPLA3; SEQ ID NO:3; комплементарная цепь: SEQ ID NO:4); номер доступа GenBank NM\_001282324.1 (*Rattus norvegicus* PNPLA3; SEQ ID NO:5; комплементарная цепь: SEQ ID NO:6); номер доступа GenBank XM\_005567051.1 (*Macaca fascicularis* PNPLA3, SEQ ID NO:7; комплементарная цепь: SEQ ID NO:8); Номер доступа GenBank XM\_001109144.2 (*Macaca mulatta* PNPLA3, SEQ ID NO:9; комплементарная цепь: SEQ ID NO:10); и номер доступа GenBank XM\_005567052.1 (*Macaca fascicularis* PNPLA3, SEQ ID NO:11; комплементарная цепь: SEQ ID NO:12).

Дополнительные примеры последовательностей мРНК PNPLA3 легко получить в общедоступных базах данных, например, GenBank, UniProt, OMIM и на веб-сайте проекта

генома Масаса.

Дополнительную информацию о PNPLA3 можно найти, например, на сайте [www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/?term=pnpla3](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/?term=pnpla3).

Полное содержание каждого из вышеуказанных регистрационных номеров доступа GenBank и номеров базы данных Gene database включено в настоящее описание посредством ссылки на дату подачи настоящей заявки.

Используемый здесь термин PNPLA3 также относится к вариациям гена PNPLA3, включая варианты, представленные в базе данных SNP. Были идентифицированы многочисленные вариации последовательностей в гене PNPLA3, которые можно найти, например, в NCBI dbSNP и UniProt (см., например, [www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/?term=pnpla3](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/?term=pnpla3), полное содержание которых включено в настоящее описание посредством ссылки, на дату подачи настоящей заявки).

Используемый здесь термин «последовательность-мишень» относится к непрерывной части нуклеотидной последовательности молекулы мРНК, образованной во время транскрипции гена PNPLA3, включая мРНК, которая является продуктом процессинга РНК первичного продукта транскрипции. Целевая часть последовательности должна быть, по меньшей мере, достаточно длинной, чтобы служить субстратом для направленного иРНК расщепления на той части нуклеотидной последовательности молекулы мРНК, которая образуется во время транскрипции гена PNPLA3, или рядом с таковой. В одном варианте осуществления целевая последовательность находится в кодирующей белок области PNPLA3.

Последовательность-мишень может иметь длину приблизительно 19-36 нуклеотидов, например, предпочтительно приблизительно 19-30 нуклеотидов. Например, целевая последовательность может состоять приблизительно из 19-30 нуклеотидов, 19-30, 19-29, 19-28, 19-27, 19-26, 19-25, 19-24, 19-23, 19-22, 19-21, 19-20, 20-30, 20-29, 20-28, 20-27, 20-26, 20-25, 20-24, 20-23, 20-22, 20-21, 21-30, 21-29, 21-28, 21-27, 21-26, 21-25, 21-24, 21-23 или 21-22 нуклеотидов в длину. В некоторых вариантах осуществления целевая последовательность имеет длину 19-23 нуклеотида, необязательно 21-23 нуклеотида. Диапазоны и длины, промежуточные по отношению к указанным выше диапазонам и длинам, также рассматриваются как часть раскрытия.

Используемый здесь термин «цепь, содержащая последовательность» относится к олигонуклеотиду, содержащему цепь нуклеотидов, которая описывается последовательностью, на которую предоставлена ссылка, с использованием стандартной номенклатуры нуклеотидов.

«G», «C», «A», «T» и «U» обычно обозначают нуклеотид, содержащий в качестве основания гуанин, цитозин, аденин, тимидин и урацил соответственно. Однако следует понимать, что термин «рибонуклеотид» или «нуклеотид» может также относиться к модифицированному нуклеотиду, как более подробно описано ниже, или к суррогатной замещающей части (см., например, Таблицу 1). Специалисту в данной области техники хорошо известно, что гуанин, цитозин, аденин и урацил могут быть заменены другими

фрагментами без существенного изменения свойств спаривания оснований олигонуклеотида, содержащего нуклеотид, несущий такой фрагмент замены. Например, без ограничения, нуклеотид, содержащий в качестве основания инозин, может образовывать пару оснований с нуклеотидами, содержащими аденин, цитозин или урацил. Следовательно, нуклеотиды, содержащие урацил, гуанин или аденин, могут быть заменены в нуклеотидных последовательностях двухцепочечной РНК, представленных в изобретении, нуклеотидом, содержащим, например, инозин. В другом примере аденин и цитозин в любом месте олигонуклеотида могут быть заменены гуанином и урацилом, соответственно, с формированием спаривания Wobble G-U пары оснований с мРНК-мишенью. Последовательности, содержащие такие замещающие фрагменты, подходят для композиций и способов, представленных в изобретении.

Термины «иРНК», «агент РНКи», «агент иРНК», «агент РНК-интерференции», используемые здесь взаимозаменяемо, относятся к агенту, содержащему РНК, как этот термин определен в настоящем изобретении, который опосредует направленное расщепление РНК транскрипта с помощью РНК-индуцированного комплекса сайленсинга (RISC). иРНК направляет специфичную для последовательности деградацию мРНК посредством процесса, известного как РНК-интерференция (РНКи). иРНК модулирует, например, ингибирует экспрессию гена PNPLA3 в клетке, например, в клетке субъекта, такого как субъект-млекопитающее.

В одном варианте осуществления агент РНК-интерференции по изобретению включает одноцепочечную РНК, которая взаимодействует с последовательностью РНК-мишени, например, последовательностью мРНК-мишени PNPLA3, чтобы направлять расщепление РНК-мишени. Без ограничения теорией, полагают, что длинная двухцепочечная РНК, введенная в клетки, расщепляется на siРНК эндонуклеазой типа III, известной как Dicer (*Sharp et al. (2001) Genes Dev. 15:485*). Dicer, фермент, подобный рибонуклеазе-III, процессирует dsРНК в короткие интерферирующие РНК из 19-23 пар оснований с характерными 3'-выступами из двух оснований (*Bernstein, et al., (2001) Nature 409:363*). Затем эти siРНКs включаются в РНК-индуцируемый комплекс сайленсинга (RISC), где одна или несколько геликаз раскручивают дуплекс siРНКs, позволяя комплементарной антисмысловой цепи управлять распознаванием мишени (*Nykanen, et al., (2001) Cell 107:309*). При связывании с соответствующей мРНК-мишенью одна или несколько эндонуклеаз RISC расщепляют мишень, обеспечивая сайленсинг (*Elbashir, et al., (2001) Genes Dev. 15:188*). Таким образом, в одном аспекте изобретение относится к одноцепочечной РНК (siРНК), генерируемой в клетке и способствующей образованию комплекса RISC для осуществления сайленсинга гена-мишени, т.е. гена PNPLA3. Соответственно, термин «siРНК» также используется в настоящем документе для обозначения iРНК, как описано выше.

В некоторых вариантах осуществления РНКи агент может представлять собой одноцепочечную siРНК (ssРНКи, single-stranded siRNA), которую вводят в клетку или организм для ингибирования мРНК-мишени. Агенты одноцепочечной РНКи связываются

с эндонуклеазой RISC, Argonaute 2, которая затем расщепляет мРНК-мишень. Одноцепочечные siРНК обычно состоят из 15-30 нуклеотидов и являются химически модифицированными. Дизайн и тестирование одноцепочечных siРНКs описаны в патенте США № 8101348 и в *Lima et al., (2012) Cell 150:883-894*, полное содержание каждого из которых включено в настоящее описание посредством ссылки. Любая из антисмысловых нуклеотидных последовательностей, описанных в настоящем изобретении, может быть использована в виде одноцепочечной siРНК, как описано в настоящем изобретении, или может быть химически модифицирована способами, описанными в *Lima et al., (2012) Cell 150:883-894*.

В некоторых вариантах осуществления «иРНК» для использования в композициях, применениях и способах по изобретению представляет собой двухцепочечную РНК и упоминается в настоящем изобретении как «средство на основе двухцепочечной РНК», «молекула двухцепочечной РНК (дсРНК)», «средство на основе дсРНК» или «дсРНК». Термин «дсРНК» относится к комплексу молекул рибонуклеиновой кислоты, имеющих дуплексную структуру, состоящую из двух антипараллельных по существу комплементарных цепей нуклеиновой кислоты, имеющих «смысловую» и «антисмысловую» ориентацию по отношению к РНК-мишени, то есть гену PNPLA3. В некоторых вариантах осуществления изобретения двухцепочечная РНК (дсРНК) запускает деградацию РНК-мишени, например, мРНК, посредством механизма посттранскрипционного подавления генов, называемого в настоящем изобретении РНК-интерференцией или РНКи.

Как правило, большинство нуклеотидов каждой цепи молекулы двухцепочечной РНК представляют собой рибонуклеотиды, но, как подробно описано в настоящем изобретении, каждая или обе цепи могут также включать один или более «нерибонуклеотидов», таких как, например, дезоксирибонуклеотид или модифицированный нуклеотид. Кроме того, в рамках изобретения, «иРНК» может включать рибонуклеотиды с химическими модификациями; иРНК может включать существенные модификации нескольких нуклеотидов. Используемый здесь термин «модифицированный нуклеотид» относится к нуклеотиду, имеющему независимо модифицированный сахарный фрагмент, модифицированную межнуклеотидную связь или модифицированное азотистое основание, или любую комбинацию таковых. Таким образом, термин «модифицированный нуклеотид» включает замены, добавления или удаления, например, функциональных групп или атомов в межнуклеозидных связях, фрагментах сахара или азотистых основаниях. Модификации, подходящие для использования в агентах по изобретению, включают все типы модификаций, раскрытые в настоящем изобретении или известных в данной области техники. Любые такие модификации, используемые в молекуле типа siРНК, охватываются термином «иРНК» или «агент РНК-интерференции» для целей настоящего описания и формулы изобретения.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения включение дезоксирибонуклеотида, если он присутствует в агенте РНК-интерференции, может

рассматриваться как включение модифицированного нуклеотида.

Участок дуплекса может иметь любую длину, которая обеспечивает специфическую деградацию желаемой РНК-мишени посредством пути RISC, и может иметь длину от приблизительно 19 до 36 пар оснований, например, длину приблизительно 19-30 пар оснований, например, около 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35 или 36 пар оснований, например, приблизительно 19-30, 19-29, 19-28, 19-27, 19-26, 19-25, 19-24, 19-23, 19-22, 19-21, 19-20, 20-30, 20-29, 20-28, 20-27, 20-26, 20-25, 20-24, 20-23, 20-22, 20-21, 21-30, 21-29, 21-28, 21-27, 21-26, 21-25, 21-24, 21-23 или 21-22 пары оснований. В некоторых вариантах осуществления длина дуплексной области составляет 19-21 пару оснований, например, 21 пару оснований. Диапазоны и длины, промежуточные по отношению к указанным выше диапазонам и длинам, также являются частью раскрытия.

Две цепи, образующие дуплексную структуру, могут быть разными частями одной большей молекулы РНК или отдельными молекулами РНК. Если две цепи являются частью одной большей молекулы и, следовательно, связаны непрерывной цепочкой нуклеотидов между 3'-концом одной нити и 5'-концом соответствующей другой нити, образуя дуплексную структуру, соединительная цепь РНК называется «петля-шпилька». Петля-шпилька может содержать по меньшей мере один неспаренный нуклеотид. В некоторых вариантах осуществления петля-шпилька может содержать по меньшей мере 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 23 или более неспаренных нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления петля-шпилька может состоять из 10 или менее нуклеотидов. В некоторых вариантах петля-шпилька может состоять из 8 или менее неспаренных нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления петля-шпилька может состоять из 4-10 неспаренных нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления петля-шпилька может состоять из 4-8 нуклеотидов.

Когда две по существу комплементарные нити дсРНК состоят из отдельных молекул РНК, эти молекулы не обязательно должны быть ковалентно связаны, но могут быть ковалентно связаны. Если две цепи соединены ковалентно другими способами, кроме непрерывной цепи нуклеотидов между 3'-концом одной цепи и 5'-концом соответствующей другой цепи, образующей дуплексную структуру, такую соединительную структуру называют «линкер». Цепи РНК могут иметь одинаковое или разное количество нуклеотидов. Максимальное количество пар оснований равно количеству нуклеотидов в самой короткой цепи дсРНК за вычетом любых выступов, присутствующих в дуплексе. В дополнение к дуплексной структуре РНКи может содержать один или более выступающих нуклеотидов. В одном варианте осуществления агента РНК-интерференции по меньшей мере одна цепь содержит 3'-выступ по меньшей мере из 1 нуклеотида. В другом варианте осуществления по меньшей мере одна цепь содержит 3'-выступ по меньшей мере из 2 нуклеотидов, например, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 10, 11, 12, 13, 14 или 15 нуклеотидов. В других вариантах осуществления по меньшей мере одна цепь агента РНК-интерференции содержит 5'-выступ по меньшей мере из 1 нуклеотида. В

некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна цепь содержит 5'-выступ по меньшей мере из 2 нуклеотидов, например, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 10, 11, 12, 13, 14 или 15 нуклеотидов. В других вариантах осуществления как 3'-, так и 5'-концы одной цепи агента РНК-интерференции содержат выступ по меньшей мере из 1 нуклеотида.

В некоторых вариантах осуществления иРНК агент по изобретению представляет собой дсРНК, каждая цепь которого содержит 19-23 нуклеотида, которые взаимодействуют с последовательностью РНК-мишени, например, гена PNPLA3, для направления расщепления РНК-мишени.

В некоторых вариантах осуществления иРНК по изобретению представляет собой дсРНК из 24-30 нуклеотидов, которая взаимодействует с последовательностью РНК-мишени, например, последовательностью мРНК-мишени PNPLA3, направляя расщепление РНК-мишени.

Используемый здесь термин «нуклеотидный выступ» относится по меньшей мере к одному неспаренному нуклеотиду, выступающему из дуплексной структуры двухцепочечной иРНК. Например, если 3'-конец одной цепи дсРНК выходит за пределы 5'-конца другой цепи или наоборот, то возникает нуклеотидный выступ (выступающий нуклеотид). дсРНК может содержать выступ по меньшей мере из одного нуклеотида; альтернативно выступающий конец может содержать по меньшей мере два нуклеотида, по меньшей мере три нуклеотида, по меньшей мере четыре нуклеотида, по меньшей мере пять нуклеотидов или более. Выступающий нуклеотид может содержать или состоять из аналога нуклеотида/нуклеозида, включая дезоксинуклеотид/нуклеозид. Выступающий(ие) конец(цы) может находиться на смысловой цепи, антисмысловой цепи или любой комбинации таковых. Более того, нуклеотид(ы) выступающего конца могут находиться на 5'-конце, 3'-конце или на обоих концах либо антисмысловой, либо смысловой цепи дсРНК.

В одном варианте осуществления антисмысловая цепь дсРНК имеет 1-10 нуклеотидов, например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 нуклеотидов, выступающих на 3'-конце или 5'-конце. В одном варианте смысловая цепь дсРНК имеет 1-10 нуклеотидов, например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 нуклеотидов, выступающих на 3'-конце или 5'-конец. В другом варианте осуществления один или более нуклеотидов на выступающем конце заменены нуклеозидтиофосфатом.

В некоторых вариантах осуществления антисмысловая цепь дсРНК имеет 1-10 нуклеотидов, например, 0-3, 1-3, 2-4, 2-5, 4-10, 5-10, например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 нуклеотидов, выступающие на 3'-конце или на 5'-конце. В одном варианте смысловая цепь дсРНК имеет 1-10 нуклеотидов, например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 нуклеотидов, выступающих на 3'-конце или 5'-конец. В другом варианте осуществления один или более нуклеотидов на выступающем конце заменены нуклеозидтиофосфатом.

В некоторых вариантах осуществления антисмысловая цепь дсРНК имеет 1-10 нуклеотидов, например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 нуклеотидов, выступающих на 3'-конце или 5'-конце. В некоторых вариантах осуществления выступающий конец на



смысловой или антисмысловой цепи, или на обеих, может включать удлиненные участки длиной более 10 нуклеотидов, например, 1-30 нуклеотидов, 2-30 нуклеотидов, 10-30 нуклеотидов, 10-25 нуклеотидов, 10-20 нуклеотидов, или 10-15 нуклеотидов в длину. В некоторых вариантах осуществления удлиненный выступ находится на смысловой нити дуплекса. В некоторых вариантах осуществления на 3'-конце смысловой нити дуплекса присутствует удлиненный выступ. В некоторых вариантах осуществления на 5'-конце смысловой нити дуплекса присутствует удлиненный выступ. В некоторых вариантах осуществления удлиненный выступ находится на антисмысловой цепи дуплекса. В некоторых вариантах осуществления на 3'-конце антисмысловой цепи дуплекса присутствует удлиненный выступ. В некоторых вариантах осуществления на 5'-конце антисмысловой цепи дуплекса присутствует удлиненный выступ. В некоторых вариантах осуществления один или более нуклеотидов в удлиненном выступе заменены нуклеозидным тиофосфатом. В некоторых вариантах осуществления выступ включает самодополняющую часть, так что выступ способен образовывать структуру шпильки, стабильной в физиологических условиях.

Термин «тупой» или «тупой конец» означает, что на этом конце двухцепочечного РНК-агента нет неспаренных нуклеотидов, т.е. нет выступающих нуклеотидов. Двухцепочечный РНК-агент с «тупыми концами» является двухцепочечным по всей своей длине, то есть на обоих концах молекулы нет выступающих нуклеотидов. РНКи агенты по изобретению включают РНКи агенты без выступающих (липких) нуклеотидов на одном конце (т.е. агенты с одним выступающим (липким) концом и одним тупым концом) или без липких нуклеотидов на любом конце. Чаще всего такая молекула будет двухцепочечной по всей своей длине.

Термин «антисмысловая цепь» или «направляющая цепь» относится к цепи иРНК, например, дсРНК РНК, которая включает область, по существу комплементарную последовательности-мишени, например, мРНК PNPLA3.

Используемый в настоящем изобретении термин «участок комплементарности» относится к участку антисмысловой цепи, который по существу комплементарен последовательности, например последовательности-мишени, например, нуклеотидной последовательности PNPLA3, как определено в настоящем изобретении. Если область комплементарности не полностью комплементарна целевой последовательности, несовпадения могут быть во внутренних или концевых областях молекулы. Как правило, наиболее допустимые несовпадения находятся в терминальных областях, например, в пределах 5, 4 или 3 нуклеотидов от 5'- или 3'-конца иРНК. В некоторых вариантах осуществления двухцепочечный РНК-агент по изобретению включает несовпадающие нуклеотиды в антисмысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления антисмысловая цепь двухцепочечного РНК-агента по изобретению включает не более 4 несовпадений с мРНК-мишенью, например, антисмысловая цепь включает 4, 3, 2, 1 или 0 несовпадений с мРНК-мишенью. В некоторых вариантах осуществления двухцепочечный РНК-агент антисмысловой цепи по изобретению включает не более 4 несовпадений со

смысловой цепью, например, антисмысловая цепь включает 4, 3, 2, 1 или 0 несовпадений со смысловой цепью. В некоторых вариантах осуществления двухцепочечный РНК-агент по изобретению включает несовпадение нуклеотидов в смысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления смысловая цепь двухцепочечного РНК-агента по изобретению включает не более 4 несовпадений с антисмысловой цепью, например, смысловая цепь включает 4, 3, 2, 1 или 0 несовпадений с антисмысловой цепью. В некоторых вариантах осуществления несовпадение нуклеотидов находится, например, в пределах 5, 4, 3 нуклеотидов от 3'-конца иРНК. В другом варианте осуществления несовпадение нуклеотидов происходит, например, в 3'-концевом нуклеотиде иРНК агента. В некоторых вариантах осуществления несовпадение(я) находится не в основной области.

Таким образом, агент РНК-интерференции, описанный в настоящем изобретении, может содержать одно или более несовпадений с последовательностью-мишенью. В одном варианте осуществления агент РНК-интерференции, описанный в настоящем изобретении, содержит не более 3 несовпадений (т.е. 3, 2, 1 или 0 несовпадений). В одном варианте осуществления агент РНК-интерференции, описанный в настоящем изобретении, содержит не более 2 несовпадений. В одном варианте осуществления агент РНК-интерференции, описанный в настоящем изобретении, содержит не более 1 несовпадения. В одном варианте осуществления агент РНК-интерференции, описанный в настоящем изобретении, содержит 0 несовпадений. В некоторых вариантах осуществления, если антисмысловая цепь агента РНКи содержит несовпадения с последовательностью-мишенью, это несовпадение может быть необязательно ограничено последними 5 нуклеотидами либо с 5'-, либо с 3'-конца области комплементарности. Например, в таких вариантах осуществления для агента РНК-интерференции из 23 нуклеотидов цепь, комплементарная области гена PNPLA3, обычно не содержит каких-либо несовпадений в пределах центральных 13 нуклеотидов. Способы, описанные в настоящем изобретении, или способы, известные в данной области, могут быть использованы для определения того, эффективен ли агент РНК-интерференции, содержащий несовпадение с последовательностью-мишенью, для ингибирования экспрессии гена PNPLA3. Рассмотрение эффективности агентов РНК-интерференции с несовпадениями в ингибировании экспрессии гена PNPLA3 важно, особенно если известно, что конкретная область комплементарности в гене PNPLA3 имеет полиморфную изменчивость последовательности в пределах популяции.

Термин «смысловая цепь» или «цепь-пассажир», используемый в настоящем изобретении, относится к цепи иРНК, которая включает область, которая по существу комплементарна области антисмысловой цепи, как этот термин определен в настоящем изобретении.

Используемый здесь термин «по существу все нуклеотиды модифицированы» означает, что значительное количество нуклеотидов (но не все) модифицированы, и может включать не более 5, 4, 3, 2 или 1 немодифицированного нуклеотида.

Используемый здесь термин «область расщепления» относится к области,

расположенной непосредственно рядом с сайтом расщепления. Сайт расщепления представляет собой сайт мишени, по которому происходит расщепление. В некоторых вариантах осуществления область расщепления содержит три основания на каждом конце сайта расщепления и непосредственно прилежащих к таковому. В некоторых вариантах осуществления область расщепления содержит два основания на каждом конце сайта расщепления и непосредственно прилежащих к таковому. В некоторых вариантах осуществления, сайт расщепления конкретно находится в сайте, связанном с нуклеотидами 10 и 11 антисмысловой цепи, а область расщепления содержит нуклеотиды 11, 12 и 13.

Используемый здесь термин «комплементарный», если не указано иное, используемый для описания первой нуклеотидной последовательности по отношению ко второй нуклеотидной последовательности, относится к способности олигонуклеотида или полинуклеотида, включающего первую нуклеотидную последовательность, гибридизоваться и образовывать дуплексную структуру при определенных условиях с олигонуклеотидом или полинуклеотидом, включающим вторую нуклеотидную последовательность, как будет понятно специалисту в данной области техники. Такими условиями могут быть, например, строгие условия, где строгие условия могут включать: 400 мМ NaCl, 40 мМ PIPES pH 6,4, 1 мМ EDTA, 50°C или 70°C в течение 12-16 часов с последующей промывкой (см., например, *“Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Sambrook, et al. (1989) Cold Spring Harbor Laboratory Press*). Могут применяться и другие условия, такие как физиологически значимые условия, которые могут наблюдаться внутри организма. Специалист в данной области сможет определить набор условий, наиболее подходящих для проверки комплементарности двух последовательностей в соответствии с конечным применением гибридизованных нуклеотидов.

Комплементарные последовательности в пределах иРНК, например, в дсРНК, как описано в настоящем изобретении, включают спаривание оснований олигонуклеотида или полинуклеотида, содержащего первую нуклеотидную последовательность, с олигонуклеотидом или полинуклеотидом, содержащим вторую нуклеотидную последовательность, по всей длине одной или обеих нуклеотидных последовательностей. Такие последовательности могут называться здесь «полностью комплементарными» по отношению друг к другу. Однако если первая последовательность упоминается здесь как «по существу комплементарная» по отношению ко второй последовательности, две последовательности могут быть полностью комплементарными, или они могут образовывать одну или более, но обычно не более 5, 4, 3 или 2 несовпадающих пар оснований при гибридизации дуплекса до 30 пар оснований, сохраняя при этом способность к гибридизации в условиях, наиболее подходящих для их конечного применения, например, для ингибирования экспрессии генов с помощью сигнального пути RISC. Однако, если два олигонуклеотида предназначены для образования при гибридизации одного или более одноцепочечных выступов, такие выступы не должны рассматриваться как несовпадения в отношении определения комплементарности.

Например, дсРНК, содержащая один олигонуклеотид длиной 21 нуклеотид и другой олигонуклеотид длиной 23 нуклеотида, причем более длинный олигонуклеотид содержит последовательность из 21 нуклеотида, которая полностью комплементарна более короткому олигонуклеотиду, все же может называться «полностью комплементарным» для целей, описанных здесь.

«Комплементарные» последовательности, используемые в настоящем изобретении, могут также включать или полностью образовываться из пар оснований, отличных от пар оснований Уотсона-Крика, или пар оснований, образованных из неприродных и модифицированных нуклеотидов, в той мере, в какой удовлетворяются вышеприведенные требования в отношении их способности к гибридизации. Такие пары оснований, отличные от пар Уотсона-Крика, включают, без ограничения таковыми, пары оснований G:U Wobble или Hoogstein.

Термины «комплементарный», «полностью комплементарный» и «по существу комплементарный» в настоящем изобретении могут использоваться в отношении совпадения оснований между смысловой цепью и антисмысловой цепью дсРНК или между антисмысловой цепью двухцепочечного РНК-агента и целевых последовательностей, как будет понятно в контексте их использования.

Используемый в настоящем изобретении полинуклеотид, который «в значительной степени комплементарен по меньшей мере части» матричной РНК (мРНК), относится к полинуклеотиду, который в значительной степени комплементарен непрерывной части представляющей интерес мРНК (например, мРНК, кодируемая геном PNPLA3). Например, полинуклеотид комплементарен по меньшей мере части мРНК PNPLA3, если последовательность в значительной степени комплементарна непрерываемой части мРНК, кодируемой геном PNPLA3.

Соответственно, в некоторых вариантах осуществления антисмысловые полинуклеотиды, раскрытые в настоящем изобретении, полностью комплементарны целевой последовательности PNPLA3. В других вариантах осуществления антисмысловые полинуклеотиды, раскрытые в настоящем изобретении, по существу комплементарны целевой последовательности PNPLA3 и содержат непрерывную нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 80% комплементарна по всей своей длине эквивалентному участку нуклеотидной последовательности любой из SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9 или 11, или фрагменту любой из SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9 или 11, например, комплементарна на приблизительно 85%, приблизительно 90%, приблизительно 91%, приблизительно 92%, приблизительно 93%, приблизительно 94%, приблизительно 95%, приблизительно 96%, приблизительно 97%, приблизительно 98% или приблизительно 99%.

В некоторых вариантах осуществления антисмысловые полинуклеотиды, раскрытые в настоящем изобретении, по существу комплементарны фрагменту целевой последовательности PNPLA3 и содержат непрерывную нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 80% комплементарна по всей своей

длине фрагменту SEQ ID NO: 1, выбранному из группы нуклеотидов 677-721; 683-721; 773-817; 1185-1295; 1185-1241; 1202-1295; 1202-1241; 1255-1295; 1738-1792; 1901-1945; 1920-1945; 2108-2208; 2108-2166; 2108-2136, 2121-2166; 2121-2208; 2169-2208; 2176-2208; или 2239-2265 SEQ ID NO: 1, например, имеет приблизительно 85%, приблизительно 90%, приблизительно 91%, приблизительно 92%, приблизительно 93%, приблизительно 94%, приблизительно 95%, приблизительно 96%, приблизительно 97%, приблизительно 98% или около 99% комплементарности.

В некоторых вариантах осуществления антисмысловые полинуклеотиды, раскрытые в настоящем изобретении, по существу комплементарны фрагменту целевой последовательности PNPLA3 и содержат непрерывную нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 80% комплементарна по всей своей длине фрагменту SEQ ID NO: 1, выбранному из группы нуклеотидов 574-596; 677-699; 683-705; 699-721; 773-795; 795-817; 1185-1207; 1192-1214; 1202-1224; 1208-1230; 1209-1231; 1210-1232; 1211-1233; 1212-1234; 1213-1233; 1214-1234; 1214-1236; 1215-1237; 1216-1238; 1219-1237; 1219-1241; 1255-1275; 1256-1276; 1257-1275; 1257-1277; 1258-1278; 1259-1279; 1260-1278; 1260-1280; 1261-1281; 1262-1282; 1263-1283; 1264-1282; 1264-1284; 1265-1285; 1267-1285; 1266-1286; 1266-1288; 1267-1285; 1267-1287; 1268-1290; 1269-1289; 1270-1290; 1271-1291; 1272-1292; 1273-1293; 1274-1294; 1275-1295; 1631-1653; 1738-1760; 1739-1761; 1740-1760; 1740-1762; 1741-1763; 1744-1766; 1746-1766; 1750-1772; 1751-1773; 1752-1774; 1753-1775; 1754-1776; 1755-1777; 1756-1778; 1757-1779; 1758-1780; 1759-1781; 1760-1782; 1761-1783; 1762-1782; 1762-1784; 1763-1785; 1764-1786; 1765-1787; 1766-1786; 1766-1788; 1767-1787; 1768-1788; 1767-1789; 1769-1789; 1770-1788; 1770-1790; 1771-1791; 1772-1792; 1815-1837; 1901-1923, 1920-1942, 1923-1945; 2112-2130; 2169-2191; 2171-2191; 2176-2198, 2177-2199, 2178-2200; 2179-2201, 2180-2202; 2181-2203; 2183-2205; 2184-2206; 2186-2208; 2239-2261; 2241-2263; 2242-2264; or 2243-2265 SEQ ID NO: 1, например, имеет приблизительно 85%, приблизительно 90%, приблизительно 91%, приблизительно 92%, приблизительно 93%, приблизительно 94%, приблизительно 95%, приблизительно 96%, приблизительно 97%, приблизительно 98% или около 99% комплементарности.

В некоторых вариантах осуществления антисмысловые полинуклеотиды, раскрытые в настоящем изобретении, по существу комплементарны фрагменту целевой последовательности PNPLA3 и содержат непрерывную нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 80% комплементарна по всей своей длине фрагменту SEQ ID NO: 1, выбранному из группы нуклеотидов 1200-1250, 1205-1250, 11210-1250, 1200-1245, 1200-1240, 1200-1235, 1200-1237, 1205-1237, 1210-1232, 1212-1237, 1200-12034, 3 1255-1300, 1260-1300, 1250-1295, 1250-1390, 1250-1285, 1250-1282, 1255-1282, 1260-1282, 1262-1300, 1262-1295, 1262-1390-1 Q1 1262 SE ID NO: 1, например, имеет приблизительно 85%, приблизительно 90%, приблизительно 91%, приблизительно 92%, приблизительно 93%, приблизительно 94%, приблизительно 95%, приблизительно 96%, приблизительно 97%, приблизительно 98% или приблизительно 99% комплементарности.

В других вариантах осуществления антисмысловые полинуклеотиды, описанные в настоящем изобретении, по существу комплементарны целевой последовательности PNPLA3 и содержат непрерывную нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере приблизительно на 80% комплементарна по всей своей длине любой из нуклеотидных последовательностей смысловой цепи в любой из Таблиц 2-11, 21, 24, 27, 30, 32, 33, 36, 37, 49 или 50, или фрагменту любой из последовательностей нуклеотидов смысловой цепи в любой из Таблиц 2-11, 21, 24, 27, 30, 32, 33, 36, 37, 49 или 50, например имеет приблизительно 85%, приблизительно 90%, приблизительно 91%, приблизительно 92%, приблизительно 93%, приблизительно 94%, приблизительно 95%, приблизительно 96%, приблизительно 97%, приблизительно 98%, приблизительно 99% или 100% комплементарности.

В одном варианте осуществления агент РНК-интерференции по настоящему изобретению содержит смысловую цепь, которая по существу комплементарна антисмысловому полинуклеотиду, который, в свою очередь, является таким же, как последовательность-мишень PNPLA3, и при этом полинуклеотид смысловой цепи содержит непрерывную нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере приблизительно на 80% комплементарна по всей своей длине эквивалентному участку нуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10 или 12 или фрагменту любой из SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10 или 12, например, имеет приблизительно 85%, приблизительно 90%, приблизительно 91%, приблизительно 92%, приблизительно 93%, приблизительно 94%, приблизительно 95%, приблизительно 96%, приблизительно 97%, приблизительно 98%, приблизительно 99% или 100% комплементарности.

В некоторых вариантах осуществления иРНК по изобретению содержит смысловую цепь, которая по существу комплементарна антисмысловому полинуклеотиду, который, в свою очередь, комплементарен последовательности-мишени PNPLA3, и при этом полинуклеотид смысловой цепи содержит непрерывную нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере приблизительно на 80% комплементарна по всей своей длине любой из нуклеотидных последовательностей антисмысловой цепи, представленных в любой из Таблиц 2-11, 21, 24, 27, 30, 32, 33, 36, 37, 49 или 50, или фрагменту любой из нуклеотидных последовательностей антисмысловой цепи, представленных в любой из Таблиц 2-11, 21, 24, 27, 30, 32, 33, 36, 37, 49 или 50, например, имеет приблизительно 85%, приблизительно 90%, приблизительно 91%, около 92%, около 93%, около 94%, около 95%, около 96%, около 97%, около 98%, около 99% или 100% комплементарности.

В некоторых вариантах осуществления смысловая и антисмысловая цепи выбраны из любого из дуплексов AD-517197.2; AD-517258.2; AD-516748.2; AD-516851.2; AD-519351.2; AD-519754.2; AD-519828.2; AD-520018.2; AD-520035.2; AD-520062.2; AD-520064.2; AD-520065.2; AD-520067.2; AD-75289.2; AD-520069.2; AD-520099.2; AD-67575.7; AD-520101.2; AD-67605.7, AD-1193323.1; AD-1193344.1; AD-1193350.1; AD-1193365.1; AD-1193379.1; AD-1193407.1; AD-1193421.1; AD-1193422.1; AD-1193429.1;

AD-1193437.1; AD-1193443.1; AD-1193471.1; и AD-1193481.1

В некоторых вариантах осуществления смысловая и антисмысловая цепи выбраны из любого из дуплексов AD-519345.1, AD-519346.1, AD-519347.1, AD-67554.7, AD-519752.3, AD-1010731.1, AD-1010732.1, AD-519343.1, AD-519344.1, AD-519349.1, AD-519350.1, AD-519753.2, AD-519932.1, AD-519935.2, AD-520018.6, AD-517837.2, AD-805635.2, AD-519329.2, AD-520063.2, AD-519757.2, AD-805631.2, AD-516917.2, AD-516828.2, AD-518983.2, AD-805636.2, AD-519754.7, AD-520062.2, AD-67575.9, AD-518923.3, AD-520053.4, AD-519667.2, AD-519773.2, AD-519354.2, AD-520060.4, AD-520061.4, AD-1010733.2, AD-1010735.2, AD-1193323.1; AD-1193344.1; AD-1193350.1; AD-1193365.1; AD-1193379.1; AD-1193407.1; AD-1193421.1; AD-1193422.1; AD-1193429.1; AD-1193437.1; AD-1193443.1; AD-1193471.1; и AD-1193481.1.

В некоторых вариантах осуществления смысловая и антисмысловая цепи выбраны из любого из дуплексов AD-519345.1; AD-1193350.1; AD-1193365.1; AD-1193437.1; и AD-519347.1.

В некоторых вариантах осуществления смысловая и антисмысловая цепи происходят из дуплекса AD-519351.

В одном варианте смысловая и антисмысловая цепи происходят из дуплекса AD-1193350.

В одном варианте смысловая и антисмысловая цепи происходят из дуплекса AD-1193365.

В одном варианте смысловая и антисмысловая цепи происходят из дуплекса AD-1193437.

В одном варианте смысловая и антисмысловая цепи происходят из дуплекса AD-519347.

Как правило, «иРНК» включает рибонуклеотиды с химическими модификациями. Такие модификации могут включать все типы модификаций, раскрытых в настоящем изобретении или известных в данной области техники. Любые такие модификации, используемые в молекуле двухцепочечной РНК, охватываются термином «иРНК» для целей настоящего описания и формулы изобретения.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения включение дезокси-нуклеотида, если он присутствует в агенте РНК-интерференции, может рассматриваться как включение модифицированного нуклеотида.

В одном аспекте изобретения агент для применения в способах и композициях по изобретению представляет собой молекулу одноцепочечного антисмыслового олигонуклеотида, которая ингибирует мРНК-мишень посредством антисмыслового механизма ингибирования. Молекула одноцепочечного антисмыслового олигонуклеотида комплементарна последовательности мРНК-мишени. Одноцепочечные антисмысловые олигонуклеотиды могут ингибировать трансляцию стехиометрическим образом за счет спаривания оснований с мРНК и физического блокирования механизма трансляции, см. *Dias, N. et al., (2002) Mol Cancer Ther 1:347-355*. Молекула одноцепочечного

антисмыслового олигонуклеотида может иметь длину от приблизительно 14 до приблизительно 30 нуклеотидов и иметь последовательность, комплементарную целевой последовательности. Например, молекула одноцепочечного антисмыслового олигонуклеотида может содержать последовательность, которая представляет собой по меньшей мере приблизительно 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 или более смежных нуклеотидов любой из описанных здесь антисмысловых последовательностей.

Фраза «контактирование клетки с иРНК», такой как дсРНК, используемая в настоящем изобретении, включает контактирование клетки любым возможным способом. Контактирование клетки с иРНК включает контактирование клетки *in vitro* с иРНК или контактирование клетки *in vivo* с иРНК. Контакт может осуществляться прямо или косвенно. Таким образом, например, иРНК может быть приведена в физический контакт с клеткой специалистом, осуществляющим способ, или, альтернативно, иРНК может быть использована в ситуации, позволяющей или вызывающей последующий контакт таковой с клеткой.

Контактирование клетки *in vitro* может осуществляться, например, путем инкубации клетки с иРНК. Контакт с клеткой *in vivo* может быть осуществлен, например, путем инъекции иРНК в ткань или рядом с тканью, в которой расположена клетка, или путем инъекции иРНК в другую область, например, в кровотоки или подкожное пространство, так что агент будет способен впоследствии достигнуть ткани, где расположена клетка-мишень. Например, иРНК может содержать лиганд или быть связанным с таковым, например, лиганд GalNAc, направляющий иРНК в представляющий интерес сайт, например, находящийся в печени. Также возможны комбинации методов контактирования *in vitro* и *in vivo*. Например, клетка также может быть приведена в контакт с иРНК *in vitro* и впоследствии трансплантирована субъекту.

В некоторых вариантах осуществления контактирование клетки с иРНК включает «введение» или «доставку иРНК в клетку» путем облегчения или осуществления захвата или поглощения клеткой. Поглощение или осуществление захвата иРНК может происходить посредством диффузии без посторонней помощи или активных клеточных процессов, или с помощью вспомогательных агентов или устройств. Введение иРНК в клетку может осуществляться *in vitro* или *in vivo*. Например, для введения *in vivo*, иРНК можно инъектировать в участок ткани или вводить системно. Введение *in vitro* в клетку включает способы, известные в данной области техники, такие как электропорация и липофекция. Дополнительные подходы описаны ниже или известны в данной области техники. Термин «липидная наночастица» или «LNP» обозначает везикулу, содержащую липидный слой, инкапсулирующий фармацевтически активную молекулу, такую как молекула нуклеиновой кислоты, например, иРНК или плазмиду, с которой транскрибируется иРНК. LNP описаны, например, в патентах США №№ 6858225, 6815432, 8158601 и 8058069, полное содержание которых включено в настоящее описание посредством ссылки.

Используемый здесь термин «субъект» представляет собой животное, такое как



млекопитающее, включая приматов (например, человека, примата, отличного от человека, например, обезьяну и шимпанзе), непримата (например, такого как корова, свинья, лошадь, коза, кролик, овца, хомяк, морская свинка, кошка, собака, крыса или мышь) или птиц, которые экспрессирует целевой ген эндогенно или гетерологично. В одном варианте осуществления субъект представляет собой человека, например, человека, подлежащего лечению или диагностике в связи с заболеванием или расстройством, при котором было бы полезным снижение экспрессии PNPLA3; человека с риском заболевания или расстройства, для которого было бы полезным снижение экспрессии PNPLA3; человека, страдающего заболеванием или расстройством, при котором может помочь снижение экспрессии PNPLA3; или человека, которого лечили от заболевания или расстройства, при котором было бы полезным снижение экспрессии PNPLA3, как описано в настоящем изобретении. В некоторых вариантах осуществления субъектом является женщина. В других вариантах осуществления субъектом является мужчина. В одном варианте осуществления субъект является взрослым субъектом. В другом варианте осуществления субъектом является педиатрический субъект.

Используемые здесь термины «лечение» или «обработка» относятся к полезному или желаемому результату, такому как уменьшение по меньшей мере одного признака или симптома расстройства, связанного с PNPLA3, у субъекта. Лечение также включает уменьшение одного или более признаков или симптомов, связанных с нежелательной экспрессией PNPLA3; уменьшение степени нежелательной активации или стабилизации PNPLA3; улучшение или смягчение нежелательной активации или стабилизации PNPLA3. «Лечение» также может означать увеличение выживаемости по сравнению с ожидаемой выживаемостью при отсутствии лечения. Термин «более низкий» в контексте уровня PNPLA3 у субъекта или маркера или симптома заболевания относится к статистически значимому снижению уровня такового. Снижение может составлять, например, не менее 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или более. В некоторых вариантах осуществления снижение составляет по меньшей мере 20%. В некоторых вариантах осуществления снижение маркера заболевания, например уровня экспрессии белка или гена, составляет по меньшей мере 50%. «Ниже» в контексте уровня PNPLA3 у субъекта означает «предпочтительно ниже уровня, принятого в пределах нормы для индивидуума без такого нарушения». В некоторых вариантах осуществления «снижение» представляет собой уменьшение разницы между уровнем маркера или симптома у субъекта, страдающего заболеванием, и уровнем, приемлемым в диапазоне нормы для индивидуума, например, уровнем снижения массы тела у тучного индивидуума по сравнению с индивидуумом, вес которого находится в пределах нормы.

Используемый здесь термин «профилактика» или «предупреждение» применительно к заболеванию, нарушению или состоянию, которое можно лечить или улучшить путем снижения экспрессии гена PNPLA3, относится к снижению вероятности того, что у субъекта разовьется симптом, связанный с таким заболеванием, расстройством или состоянием, например, симптом нежелательной или чрезмерной экспрессии PNPLA3,

такой как наличие повышенных уровней белков сигнального пути hedgehog, ожирение печени (стеатоз), неалкогольный стеатогепатит (NASH), цирроз печени, накопление жира в печени, воспаление печени, гепатоцеллюлярный некроз, фиброз печени, ожирение или неалкогольная жировая болезнь печени (NAFLD). Вероятность развития, например, NAFLD, снижается, например, когда у человека, имеющего один или более факторов риска NAFLD, либо не развивается NAFLD, либо развивается NAFLD с меньшей степенью тяжести по сравнению с популяцией, имеющей те же факторы риска и не получающей лечения. как описано здесь. Отсутствие развития заболевания, расстройства или состояния или уменьшение развития симптома, связанного с таким заболеванием, расстройством или состоянием (например, по меньшей мере приблизительно на 10% по клинически принятой шкале для этого заболевания или расстройства), или проявление отсроченных симптомов с задержкой (например, на дни, недели, месяцы или годы) считается эффективной профилактикой.

Используемый в настоящем изобретении термин «заболевание, ассоциированное с белком 3, содержащим пататин-подобный фосфолипазный домен» или «заболевание, ассоциированное с PNPLA3» представляет собой заболевание или нарушение, вызванное или связанное с экспрессией гена PNPLA3 или продукцией белка PNPLA3. Термин «заболевание, связанное с PNPLA3» включает заболевание, расстройство или состояние, при котором может помочь снижение экспрессии, репликации или активности белка гена PNPLA3. Неограничивающие примеры заболеваний, связанных с PNPLA3, включают, например, жировую дистрофию печени (стеатоз), неалкогольный стеатогепатит (NASH), цирроз печени, накопление жира в печени, воспаление печени, гепатоцеллюлярный некроз, фиброз печени, ожирение или неалкогольную жировую болезнь печени (NAFLD). В другом варианте осуществления заболевание, связанное с PNPLA3, представляет собой неалкогольную жировую болезнь печени (NAFLD). В другом варианте осуществления заболевание, связанное с PNPLA3, представляет собой неалкогольный стеатогепатит (NASH). В другом варианте осуществления заболевание, связанное с PNPLA3, представляет собой цирроз печени. В другом варианте осуществления заболевание, связанное с PNPLA3, представляет собой резистентность к инсулину. В другом варианте осуществления заболевание, связанное с PNPLA3, не является резистентностью к инсулину. В одном варианте осуществления заболевание, связанное с PNPLA3, представляет собой ожирение.

В одном варианте осуществления заболевание, связанное с PNPLA3, представляет собой неалкогольную жировую болезнь печени (NAFLD). Используемый здесь термин «неалкогольная жировая болезнь печени», используемый взаимозаменяемо с термином «NAFLD», относится к заболеванию, определяемому наличием макрососудистого стеатоза при приеме внутрь менее 20 г алкоголя в день. NAFLD является наиболее распространенным заболеванием печени в Соединенных Штатах и обычно ассоциируется с резистентностью к инсулину/сахарным диабетом 2-ого типа и ожирением. NAFLD проявляется стеатозом, стеатогепатитом, циррозом печени и иногда гепатоцеллюлярной

карциномой. Обзор NAFLD см. в Tolman and Dalpiaz (2007) *Ther. Clin. Risk. Manag.*, 3(6):1153-1163, полное содержание которого включено сюда в качестве ссылки.

«Терапевтически эффективное количество», как используется в настоящем изобретении, включает количество агента РНК-интерференции, которое при введении субъекту, имеющему заболевание, связанное с PNPLA3, является достаточным для эффективного лечения заболевания (например, за счет уменьшения, улучшения, или сохранения (без прогрессирования) существующего заболевания или одного или более симптомов заболевания). «Терапевтически эффективное количество» может варьироваться в зависимости от РНКи агента, способа введения агента, заболевания и его тяжести, а также анамнеза, возраста, веса, семейного анамнеза, генетического состава, типов предшествующего или сопутствующего лечения, если таковые имеются, и других индивидуальных особенностей субъекта, подлежащего лечению.

«Профилактически эффективное количество», используемое в настоящем изобретении, включает количество агента РНК-интерференции, которое при введении субъекту, имеющему расстройство, связанное с PNPLA3, является достаточным для предотвращения или облегчения заболевания или одного или более симптомов заболевания. Облегчение заболевания включает замедление течения заболевания или уменьшение тяжести развивающегося позднее заболевания. «Профилактически эффективное количество» может варьироваться в зависимости от агента РНК-интерференции, способа введения агента, степени риска заболевания и анамнеза, возраста, веса, семейного анамнеза, генетического состава, типов предшествующего или сопутствующего лечения, если таковые имеются, и других индивидуальных особенностей субъекта, подлежащего лечению.

«Терапевтически эффективное количество» или «профилактически эффективное количество» также включает количество агента РНК-интерференции, которое оказывает некоторый желаемый эффект при разумном соотношении польза/риск, применимом к любому лечению. иРНК, используемая в способах по настоящему изобретению, может быть введена в количестве, достаточном для получения приемлемого соотношения польза/риск, применимого к такому лечению.

Фраза «фармацевтически приемлемый» используется здесь для обозначения тех соединений, материалов, композиций или лекарственных форм, которые, в рамках здравого медицинского суждения, подходят для использования в контакте с тканями людей и животных при отсутствии чрезмерной токсичности, раздражения, аллергической реакции или других проблем или осложнений, и соответствующих разумному соотношению польза/риск.

Фраза «фармацевтически приемлемый носитель», используемая в настоящем изобретении, означает фармацевтически приемлемый материал, композицию или носитель, такой как жидкий или твердый наполнитель, разбавитель, эксципиент, технологическую добавку (например, смазка, тальк магния, стеарат кальция или цинка, или стеариновую кислоту), или инкапсулирующий материал растворителя,

участвующий в переносе или транспортировке рассматриваемого соединения из одного органа или части тела в другой орган или часть тела субъекта. Каждый носитель должен быть «приемлемым» в том смысле, что он совместим с другими ингредиентами препарата и не вреден для субъекта, подлежащего лечению. Такие носители известны в данной области техники. Фармацевтически приемлемые носители включают носители для введения путем инъекции.

Используемый здесь термин «образец» включает набор подобных жидкостей, клеток или тканей, выделенных у субъекта, а также жидкостей, клеток или тканей, присутствующих у субъекта. Примеры биологических жидкостей включают кровь, сыворотку и серозные жидкости, плазму, спинномозговую жидкость, глазные жидкости, лимфу, мочу, слюну и т.п. Образцы тканей могут включать образцы тканей, органов или определенных областей таковых. Например, образцы могут быть получены из определенных органов, частей органов или жидкостей или клеток внутри этих органов. В некоторых вариантах осуществления образцы могут быть получены из печени (например, цельной печени или определенных сегментов печени или определенных типов клеток печени, таких как, например, гепатоциты). В некоторых вариантах осуществления «образец, полученный от субъекта» относится к моче, полученной от субъекта. «Образец, полученный от субъекта» может относиться к крови или полученной из крови сыворотке или плазме субъекта.

## **II. иРНК по изобретению**

Настоящее изобретение относится к иРНК, которые ингибируют экспрессию гена PNPLA3. В предпочтительных вариантах осуществления иРНК включает молекулы двухцепочечной рибонуклеиновой кислоты (дсРНК) для ингибирования экспрессии гена PNPLA3 в клетке, такой как клетка субъекта, например млекопитающего, такого как человек, восприимчивого к развитию PNPLA3-сопутствующего расстройства, например, гипертриглицеридемии. Средство дсРНКи включает антисмысловую цепь, имеющую область комплементарности, которая комплементарна по меньшей мере части мРНК, образованной при экспрессии гена PNPLA3. Область комплементарности имеет длину около 19-30 нуклеотидов (например, около 30, 29, 28, 27, 26, 25, 24, 23, 22, 21, 20 или 19 нуклеотидов в длину). При контакте с клеткой, экспрессирующей ген PNPLA3, иРНК ингибирует экспрессию гена PNPLA3 (например, гена PNPLA3 человека, примата, неprimата или крысы) по меньшей мере приблизительно на 50%, по данным анализа, например, методом на основе ПЦР или методом разветвленной ДНК (bDNA), или методом на основе белков, например, иммунофлуоресцентным анализом, с использованием, например, методов вестерн-блоттинга или проточной цитометрии. В предпочтительных вариантах осуществления ингибирование экспрессии определяют с помощью метода количественной ПЦР, представленного в примерах настоящего документа, с siРНК, например, в концентрации 10 нМ, в соответствующей клеточной линии организма, обозначенного в настоящем изобретении. В предпочтительных вариантах ингибирование экспрессии *in vivo* определяется по нокдауну человеческого гена у грызунов,

экспрессирующего человеческого ген, например, у мыши или у мыши, инфицированной AAV, экспрессирующей человеческий целевой ген, например, при введении в виде однократной дозы, например, в дозе 3 мг/кг на пике экспрессии РНК.

дсРНК включает две цепи РНК, которые являются комплементарными и гибридизуются с образованием дуплексной структуры в условиях, при которых будет использоваться дсРНК. Одна цепь дсРНК (антисмысловая цепь) включает область комплементарности, которая по существу комплементарна, причем как правило, полностью комплементарна последовательности-мишени. Последовательность-мишень может быть получена из последовательности мРНК, образованной во время экспрессии гена PNPLA3. Другая цепь (смысловая цепь) включает область, комплементарную антисмысловой цепи, так что две цепи гибридизуются и образуют дуплексную структуру при объединении в подходящих условиях. Как описано в другом месте настоящего документа и как известно в данной области техники, комплементарные последовательности дсРНК также могут содержаться в виде самокомплементарных областей одной молекулы нуклеиновой кислоты, а не только в виде отдельных олигонуклеотидов.

Как правило, дуплексная структура имеет длину от 15 до 30 пар оснований, например, 15-29, 15-28, 15-27, 15-26, 15-25, 15-24, 15-23, 15-22, 15-27. 21, 15-20, 15-19, 15-18, 15-17, 18-30, 18-29, 18-28, 18-27, 18-26, 18-25, 18-24, 18-23, 18-22, 18-21, 18-20, 19-30, 19-29, 19-28, 19-27, 19-26, 19-25, 19-24, 19-23, 19-22, 19- 21, 19-20, 20-30, 20-29, 20-28, 20-27, 20-26, 20-25, 20-24, 20-23, 20-22, 20-21, 21-30, 21-29, 21-28, 21-27, 21-26, 21-25, 21-24, 21-23 или 21-22 пары оснований в длину. В некоторых предпочтительных вариантах осуществления дуплексная структура имеет длину от 18 до 25 пар оснований, например, 18-25, 18-24, 18-23, 18-22, 18-21, 18-20, 19-25, 19-24. , 19-23, 19-22, 19-21, 19-20, 20-25, 20-24, 20-23, 20-22, 20-21, 21-25, 21-24, 21-23, 21 -22, 22-25, 22-24, 22-23, 23-25, 23-24 или 24-25 пар оснований в длину, например, 19-21 пар оснований в длину. Диапазоны и длины, промежуточные по отношению к указанным выше диапазонам и длинам, также являются частью раскрытия.

Точно так же область комплементарности целевой последовательности имеет длину от 15 до 30 нуклеотидов, например, 15-29, 15-28, 15-27, 15-26, 15-25, 15-24, 15-23, 15-25. 22, 15-21, 15-20, 15-19, 15-18, 15-17, 18-30, 18-29, 18-28, 18-27, 18-26, 18-25, 18-24, 18-23, 18-22, 18-21, 18-20, 19-30, 19-29, 19-28, 19-27, 19-26, 19-25, 19-24, 19-23, 19- 22, 19-21, 19-20, 20-30, 20-29, 20-28, 20-27, 20-26, 20-25, 20-24, 20-23, 20-22, 20-21, 21-30, 21-29, 21-28, 21-27, 21-26, 21-25, 21-24, 21-23 или 21-22 нуклеотида в длину, например 19-23 нуклеотида в длину или 21 -23 нуклеотида в длину. Диапазоны и длины, промежуточные по отношению к указанным выше диапазонам и длинам, также являются частью раскрытия.

В некоторых вариантах осуществления дуплексная структура имеет длину от 19 до 30 пар оснований. Точно так же область комплементарности целевой последовательности имеет длину от 19 до 30 нуклеотидов.

В некоторых вариантах осуществления дсРНК имеет длину от приблизительно 19 до приблизительно 23 нуклеотидов или от приблизительно 25 до приблизительно 30 нуклеотидов. В общем, дсРНК обладает достаточной длиной, чтобы служить субстратом для фермента Dicer. Например, в данной области техники хорошо известно, что дсРНК длиной более 21-23 нуклеотидов могут служить субстратами для Dicer. Также обычный специалист поймет, что область РНК, предназначенная для расщепления, чаще всего будет частью более крупной молекулы РНК, часто молекулы мРНК. В соответствующих случаях «часть» мРНК-мишени представляет собой непрерывную последовательность мРНК-мишени достаточной длины, которая позволяет таковой служить субстратом для РНК-интерференционного расщепления (т.е. расщепления по сигнальному пути/каскаду RISC).

Специалисту в данной области техники также будет понятно, что дуплексная область является основной функциональной частью дсРНК, например, дуплексная область размером от приблизительно 19 до приблизительно 30 пар оснований, например, приблизительно 19-30, 19-29, 19-28, 19-27, 19-26, 19-25, 19-24, 19-23, 19-22, 19-21, 19-20, 20-30, 20-29, 20-28, 20-27, 20-26, 20-25, 20-24, 20-23, 20-22, 20-21, 21-30, 21-29, 21-28, 21-27, 21-26, 21-25, 21-24, 21-23 или 21-22 пары оснований. Таким образом, в одном варианте осуществления, в той мере, в какой область дуплекса становится преобразованной в функциональный дуплекс, например, из 15-30 пар оснований, нацеленный на желаемую РНК для расщепления, молекула РНК или комплекс молекул РНК, имеющий дуплексный участок более 30 пар оснований представляет собой дсРНК. Таким образом, обычному специалисту в данной области будет понятно, что в одном варианте осуществления тиРНК представляет собой дсРНК. В другом варианте осуществления дсРНК не является встречающейся в природе тиРНК. В другом варианте осуществления иРНК-агент, пригодный для нацеливания на экспрессию гена PNPLA3, не образуется в клетке-мишени путем расщепления более крупной дсРНК.

дсРНК, как описано в настоящем изобретении, может дополнительно включать один или более одноцепочечных выступающих нуклеотидов, например, 1-4, 2-4, 1-3, 2-3, 1, 2, 3 или 4 нуклеотида. дсРНКs, имеющие по меньшей мере один выступающий нуклеотид, могут обладать лучшими ингибиторными свойствами по сравнению с аналогами таковых с тупыми концами. Выступающий нуклеотид может содержать или состоять из аналога нуклеотида/нуклеозида, включая дезоксинуклеотид/нуклеозид. Выступающий(е) конец(цы) может находиться на смысловой цепи, антисмысловой цепи или любой комбинации таковых. Кроме того, нуклеотид(ы) выступающего конца могут находиться на 5'-конце, 3'-конце или на обоих концах антисмысловой или смысловой цепей дсРНК.

дсРНК можно синтезировать стандартными методами, известными в данной области. Соединения двухцепочечного агента РНК-интерференции по изобретению могут быть получены с использованием двухстадийной процедуры. Сначала, отдельные цепи двухцепочечной молекулы РНК получают отдельно. Затем составляющие цепи отжигают.

Отдельные цепи соединения siРНК могут быть получены с использованием жидко- или твердофазного органического синтеза или того и другого. Преимущество органического синтеза заключается в том, что олигонуклеотидные цепи, содержащие неприродные или модифицированные нуклеотиды, могут быть легко получены. Аналогичным образом, одноцепочечные олигонуклеотиды по изобретению могут быть получены с использованием жидко- или твердофазного органического синтеза или того и другого.

В одном аспекте дсРНК по изобретению включает по меньшей мере две нуклеотидные последовательности, смысловую последовательность и антисмысловую последовательность. Смысловая цепь выбрана из группы последовательностей, представленных в любой из Таблиц 2-11, 21, 24, 27, 30, 32, 33, 36, 37, 49 или 50, и соответствующая антисмысловая цепь для смысловой цепи представляет собой выбранной из группы последовательностей любой из Таблиц 2-11, 21, 24, 27, 30, 32, 33, 36, 37, 49 или 50. В этом аспекте одна из двух последовательностей комплементарна другой из двух последовательностей, причем одна из последовательностей в значительной степени комплементарна последовательности мРНК, полученной при экспрессии гена PNPLA3. Таким образом, в этом аспекте дсРНК будет включать два олигонуклеотида, где один олигонуклеотид описан как смысловая цепь в любой из Таблиц 2-11, 21, 24, 27, 30, 32, 33, 36, 37, 49 или 50, а второй олигонуклеотид описан как соответствующая антисмысловая цепь смысловой цепи в любой из Таблиц 2-11, 21, 24, 27, 30, 32, 33, 36, 37, 49 или 50.

В некоторых вариантах осуществления по существу комплементарные последовательности дсРНК содержатся в отдельных олигонуклеотидах. В других вариантах осуществления по существу комплементарные последовательности дсРНК содержатся в одном олигонуклеотиде.

В некоторых вариантах осуществления смысловая или антисмысловая цепь выбрана из смысловой или антисмысловой цепи любого из дуплексов AD-517197.2; AD-517258.2; AD-516748.2; AD-516851.2; AD-519351.2; AD-519754.2; AD-519828.2; AD-520018.2; AD-520035.2; AD-520062.2; AD-520064.2; AD-520065.2; AD-520067.2; AD-75289.2; AD-520069.2; AD-520099.2; AD-67575.7; AD-520101.2; AD-1193323.1; AD-1193344.1; AD-1193350.1; AD-1193365.1; AD-1193379.1; AD-1193407.1; AD-1193421.1; AD-1193422.1; AD-1193429.1; AD-1193437.1; AD-1193443.1; AD-1193471.1; AD-1193481.1 или AD-67605.7.

В некоторых вариантах осуществления смысловая или антисмысловая цепь выбрана из смысловой или антисмысловой цепи любого из дуплексов AD-519345.1, AD-519346.1, AD-519347.1, AD-67554.7, AD-519752.3, AD-1010731.1, AD-1010732.1, AD-519343.1, AD-519344.1, AD-519349.1, AD-519350.1, AD-519753.2, AD-519932.1, AD-519935.2, AD-520018.6, AD-517837.2, AD-805635.2, AD-519329.2, AD-520063.2, AD-519757.2, AD-805631.2, AD-516917.2, AD-516828.2, AD-518983.2, AD-805636.2, AD-519754.7, AD-520062.2, AD-67575.9, AD-518923.3, AD-520053.4, AD-519667.2, AD-519773.2, AD-519354.2, AD-520060.4, AD-520061.4, AD-1010733.2, AD-1010735.2, AD-

1193323.1; AD-1193344.1; AD-1193350.1; AD-1193365.1; AD-1193379.1; AD-1193407.1; AD-1193421.1; AD-1193422.1; AD-1193429.1; AD-1193437.1; AD-1193443.1; AD-1193471.1; или AD-1193481.1.

В некоторых вариантах осуществления смысловая или антисмысловая цепь выбрана из смысловой или антисмысловой цепи любого из дуплексов AD-519345.1; AD-1193350.1; AD-1193365.1; AD-1193437.1; and AD-519347.1.

В некоторых вариантах осуществления смысловая или антисмысловая цепь выбрана из смысловой или антисмысловой цепи дуплекса AD-519351.

В одном варианте смысловая или антисмысловая цепь выбрана из смысловой или антисмысловой цепи дуплекса AD-1193350.

В одном варианте смысловая или антисмысловая цепь выбрана из смысловой или антисмысловой цепи дуплекса AD-1193365.

В одном варианте смысловая или антисмысловая цепь выбрана из смысловой или антисмысловой цепи дуплекса AD-1193437.

В одном варианте смысловая или антисмысловая цепь выбрана из смысловой или антисмысловой цепи дуплекса AD-519347.

Следует понимать, что хотя последовательности, представленные, например, в Таблицах 3, 5, 7, 9, 11, 21, 24, 27, 30, 32, 36 и 50 не описаны как модифицированные или конъюгированные последовательности, РНК представленная как иРНК по изобретению, например, дсРНК по изобретению, может содержать любую из последовательностей, представленных в любой из Таблиц 2-11, 21, 24, 27, 30, 32, 33, 36, 37, 49 или 50, которая является немодифицированной, неконъюгированной или модифицированной или конъюгированной иначе, чем описано в настоящем изобретении. Другими словами, изобретение охватывает дсРНК из Таблиц 2-11, 21, 24, 27, 30, 32, 33, 36, 37, 49 или 50, которые являются немодифицированными, неконъюгированными, или модифицированными или конъюгированными, как описано здесь.

Специалисту в данной области техники хорошо известно, что дсРНК, имеющие дуплексную структуру приблизительно из 20-23 пар оснований, например, из 21 пары оснований, признаны особенно эффективными в индукции РНК-интерференции (Elbashir *et al.*, *EMBO* 2001, 20:6877-6888). Однако другие исследователи обнаружили, что более короткие или более длинные дуплексные структуры РНК также могут быть эффективными (Chu and Rana (2007) *RNA* 14:1714-1719; Kim *et al.* (2005) *Nat Biotech* 23:222-226). В вариантах осуществления, описанных выше, по своей природе последовательности олигонуклеотидов, представленных в любой из Таблиц 2-11, 21, 24, 27, 30, 32, 33, 36, 37, 49 или 50, дсРНК, описанные в настоящем изобретении, могут включать по меньшей мере одну цепь длиной не менее 21 нуклеотида. Можно ожидать, что более короткие дуплексы, имеющие любую из последовательностей, представленных в любой из Таблиц 2-11, 21, 24, 27, 30, 32, 33, 36, 37, 49 или 50, за исключением нескольких нуклеотидов на одном или обоих концах могут быть одинаково эффективны по сравнению с описанными выше дсРНК. Следовательно, дсРНК, имеющие



последовательность из по меньшей мере 19, 20 или более последовательных нуклеотидов, полученных из любой из последовательностей любой из Таблиц 2-11, 21, 24, 27, 30, 32, 33, 36, 37, 49 или 50, и отличающиеся своей способностью ингибировать экспрессию гена PNPLA3 не более чем приблизительно на 5, 10, 15, 20, 25 или 30% ингибирования от дсРНК, содержащей полную последовательность, рассматриваются как входящие в объем настоящего изобретения.

Кроме того, РНК, представленные в Таблицах 2-11, 21, 24, 27, 30, 32, 33, 36, 37, 49 или 50, показывают сайт(ы) в транскрипте PNPLA3, восприимчивые к RISC-опосредованному расщеплению. Таким образом, настоящее изобретение дополнительно включает иРНК, нацеленные на один из этих сайтов. Как описано в настоящем изобретении, иРНК считается нацеленной на конкретный сайт транскрипта РНК, если иРНК способствует расщеплению транскрипта в любом месте этого конкретного сайта. Такая иРНК обычно включает по меньшей мере около 19 последовательных нуклеотидов из любой из последовательностей, представленных в любой из Таблиц 2-11, 21, 24, 27, 30, 32, 33, 36, 37, 49 или 50, и соединенных с дополнительными нуклеотидными последовательностями взятыми из области, примыкающей к выбранной последовательности в гене PNPLA3.

### **III. Модифицированные иРНК по изобретению**

В некоторых вариантах осуществления РНК, принадлежащая к иРНК по изобретению, например, дсРНК, является немодифицированной и не содержит, например, химических модификаций или конъюгаций, известных в данной области техники и описанных в настоящем изобретении. В других вариантах осуществления РНК, принадлежащую к иРНК по изобретению, например, дсРНК, химически модифицирована для повышения стабильности или приобретения других полезных характеристик. В некоторых вариантах осуществления изобретения по существу все нуклеотиды иРНК по изобретению модифицированы. В других вариантах осуществления изобретения все нуклеотиды иРНК или по существу все нуклеотиды иРНК модифицированы, т.е. в цепи иРНК присутствует не более 5, 4, 3, 2 или 1 немодифицированных нуклеотидов.

Нуклеиновые кислоты, представленные в изобретении, могут быть синтезированы или модифицированы способами, хорошо зарекомендовавшими себя в данной области, такими как описанные в «*Current protocols in nucleic acid chemistry*,” *Beaucage, S.L. et al. (Edrs.), John Wiley & Sons, Inc., New York, NY, USA*», содержание которого включено в настоящее описание посредством ссылки. Модификации включают, например, модификации концов, например, модификации 5'-конца (фосфорилирование, конъюгация, инвертированные связи) или модификации 3'-конца (конъюгация, ДНК-нуклеотиды, инвертированные связи и т.д.); модификации оснований, например замена стабилизирующими основаниями, дестабилизирующими основаниями или основаниями, образующими пары с расширенным репертуаром партнеров, удаленные основания (абазические нуклеотиды) или конъюгированные основания; модификации сахара (например, в 2'-положении или 4'-положении) или замену сахара; или модификации

остова (скелета) соединения, включая модификацию или замену фосфодиэфирных связей. Конкретные примеры соединений иРНК, применимых в вариантах осуществления, описанных в настоящем изобретении, включают, без ограничения таковыми, РНК, содержащие модифицированные остовы или не содержащие природных межнуклеозидных связей. РНК с модифицированным остовом включают, помимо прочего, те, которые не имеют атома фосфора в остове. Для целей настоящего описания и как иногда упоминается в данной области техники, модифицированные РНК, не имеющие атома фосфора в своем межнуклеозидном остове, также могут считаться олигонуклеозидами. В некоторых вариантах осуществления модифицированная иРНК имеет атом фосфора в своем межнуклеозидном остове.

Модифицированные остовы РНК включают, например, фосфоротиоаты, хиральные фосфоротиоаты, фосфородитиоаты, фосфотриэфиры, аминоалкилфосфотриэфиры, метил- и другие алкилфосфонаты, включая 3'-алкиленфосфонаты и хиральные фосфонаты, фосфинаты, фосфорамидаты, включая 3'-аминофосфорамидат и аминоалкилфосфорамидаты, тионофосфорамидаты, тионоалкилфосфонаты, тионоалкилфосфотриэфиры и боранофосфаты, имеющие нормальные связи 3'-5', аналоги таковых с 2'-5'-связями, а также соединения с обратной полярностью, в которых соседние пары нуклеозидных звеньев связаны 3'-5' с 5'-3' или 2'-5' с 5'-2'. Также сюда включены различные соли, смешанные соли и формы свободных кислот. В некоторых вариантах осуществления изобретения агенты дсРНК по изобретению находятся в форме свободной кислоты. В других вариантах осуществления изобретения агенты дсРНК по изобретению находятся в форме соли. В одном варианте осуществления агенты дсРНК по изобретению находятся в форме натриевой соли. В некоторых вариантах осуществления, когда агенты дсРНК по изобретению находятся в форме натриевой соли, ионы натрия присутствуют в агенте в качестве противоионов практически для всех фосфодиэфирных и/или фосфоротиотатных групп, присутствующих в агенте. Агенты, в которых практически все фосфодиэфирные и/или тиофосфатные связи имеют противоион натрия, включают не более 5, 4, 3, 2 или 1 фосфодиэфирной и/или тиофосфатной связи без противоиона натрия. В некоторых вариантах осуществления, когда агенты дсРНК по изобретению находятся в форме натриевой соли, ионы натрия присутствуют в агенте в качестве противоионов для всех фосфодиэфирных и/или тиофосфатных групп, присутствующих в агенте.

Репрезентативные патенты США, в которых описывается получение вышеуказанных фосфорсодержащих соединений, включают, без ограничения таковыми, патенты США № 3,687,808; 4 469 863; 4 476 301; 5 023 243; 5 177 195; 5 188 897; 5 264 423; 5 276 019; 5 278 302; 5 286 717; 5 321 131; 5 399 676; 5 405 939; 5 453 496; 5 455 233; 5 466 677; 5 476 925; 5 519 126; 5 536 821; 5 541 316; 5 550 111; 5 563 253; 5 571 799; 5 587 361; 5 625 050; 6 028 188; 6 124 445; 6 160 109; 6 169 170; 6 172 209; 6 239 265; 6 277 603; 6 326 199; 6 346 614; 6 444 423; 6 531 590; 6 534 639; 6 608 035; 6 683 167; 6 858 715; 6 867 294; 6 878 805; 7 015 315; 7 041 816; 7 273 933; 7 321 029; и патент США RE39464, полное содержание каждого из которых включено в настоящее описание в качестве ссылки.

Модифицированные скелеты/остовы РНК, не включающие в себя атом фосфора, имеют остовы (скелеты), сформированные короткоцепочечными алкильными или циклоалкильными межнуклеозидными связями, смешанными гетероатомами и алкильными или циклоалкильными межнуклеозидными связями или одной или несколькими короткоцепочечными гетероатомными или гетероциклическими межнуклеозидными связями. К ним относятся соединения, имеющие морфолиновые связи (частично образованные из сахарной части нуклеозида); силоксановые скелеты; сульфидные, сульфоксидные и сульфоновые скелеты; формацетильные и тиоформацетильные скелеты; метиленформацетильные и тиоформацетильные скелеты; алкенсодержащие скелеты; сульфаматные скелеты; метиленимино- и метиленигидразино-скелеты; сульфонатные и сульфаниламидные скелеты; амидные скелеты; и другие скелеты, содержащие смешанные компоненты N, O, S и CH<sub>2</sub>.

Репрезентативные патенты США, в которых описывается получение вышеуказанных олигонуклеозидов, включают, без ограничения таковыми, патенты США №№ 5,034,506; 5 166 315; 5 185 444; 5 214 134; 5 216 141; 5 235 033; 5,64,562; 5 264 564; 5 405 938; 5 434 257; 5 466 677; 5 470 967; 5 489 677; 5 541 307; 5 561 225; 5 596 086; 5 602 240; 5 608 046; 5 610 289; 5 618 704; 5 623 070; 5 663 312; 5 633 360; 5 677 437; и 5 677 439, полное содержание каждого из которых включено в настоящее описание посредством ссылки.

Предполагается, что подходящие миметики РНК, в которых как сахар, так и межнуклеозидная связь, т.е. скелет нуклеотидных единиц заменены новыми группами можно использовать в представленных здесь иРНК. Базовые звенья сохраняют для гибридизации с соответствующим целевым соединением нуклеиновой кислоты. Одно такое олигомерное соединение, в котором миметик РНК, обладающий превосходящими свойствами к гибридизации, называется пептидной нуклеиновой кислотой (PNA). В соединениях PNA сахарный остов РНК заменен остовом, содержащим амид, в частности, остовом аминокислоты глицина. Азбазовые основания сохраняются и связаны прямо или косвенно с атомами азота амидной части основной цепи. Репрезентативные патенты США, в которых рассказывается о получении соединений PNA, включают, без ограничения таковыми, патенты США №№ 5 539 082; 5 714 331; и 5 719 262, полное содержание каждого из которых включено в настоящее описание посредством ссылки. Дополнительные соединения PNA, подходящие для использования в иРНК по изобретению, описаны, например, в *Nielsen et al., Science, 1991, 254, 1497-1500*.

Некоторые варианты осуществления, представленные в изобретении, включают РНК с фосфоротиоатными скелетами и олигонуклеозиды с гетероатомными скелетами и, в частности, --CH<sub>2</sub>--NH--CH<sub>2</sub>-, --CH<sub>2</sub>--N(CH<sub>3</sub>)--O--CH<sub>2</sub>-- [известными в качестве метилен-(метилямино) или ММІ-скелетов], --CH<sub>2</sub>--O--N(CH<sub>3</sub>)--CH<sub>2</sub>--, --CH<sub>2</sub>--N(CH<sub>3</sub>)--N(CH<sub>3</sub>)--CH<sub>2</sub>-- and --N(CH<sub>3</sub>)--CH<sub>2</sub>--CH<sub>2</sub>-- [где нативная фосфодиэфирная цепь представлена как --O--P--O--CH<sub>2</sub>-] в упомянутом выше патенте США № 5489677, и амидные цепи представлены в соответствии с упомянутым выше патентом США № 5602240. В некоторых вариантах

осуществления РНК, представленные в настоящем изобретении, имеют структуры морфолинового скелета из упомянутого выше патента США № 5034506.

Модифицированные РНК также могут содержать один или более фрагментов замещенного сахара. иРНКs, например, дсРНКs, представленные в настоящем изобретении, могут включать один из следующих элементов в 2'-положении: OH; F; O-, S-, или N-алкил; O-, S- или N-алкенил; O-, S- или N-алкинил; или O-алкил-O-алкил, где алкил, алкенил и алкинил могут представлять собой замещенный или незамещенный C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>-алкил или C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub>-алкенил и алкинил. Примеры подходящих модификаций включают O[(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>O]<sub>m</sub>CH<sub>3</sub>, O(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>OCH<sub>3</sub>, O(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>NH<sub>2</sub>, O(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>CH<sub>3</sub>, O(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>ONH<sub>2</sub>, and O(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>ON[(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>CH<sub>3</sub>]<sub>2</sub>, где n и m составляют от 1 до приблизительно 10. В других вариантах осуществления дсРНК включают один из следующих элементов в положении 2': C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> низший алкил, замещенный низший алкил, алкарил, аралкил, O-алкарил или O-аралкил, SH, SCH<sub>3</sub>, OCN, Cl, Br, CN, CF<sub>3</sub>, OCF<sub>3</sub>, SOCH<sub>3</sub>, SO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, ONO<sub>2</sub>, NO<sub>2</sub>, N<sub>3</sub>, NH<sub>2</sub>, гетероциклоалкил, гетероциклоалкарил, аминоалкиламино, полиалкиламино, замещенный силлил, группу для расщепления РНК, репортерную группу, интеркалятор, группу для улучшения фармакокинетических свойств иРНК или группу для улучшения фармакодинамических свойств иРНК, а также другие заместители, обладающие подобными свойствами. В некоторых вариантах осуществления модификация включает 2'-метоксиэтокси (2'-O--CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>, также известную как 2'-O-(2-метоксиэтил) или 2'-МОЕ)) (*Martin et al., Helv. Chim. Acta*, 1995, 78:486-504), то есть алкокси-алкоксигруппу. Другой типичной модификацией является 2'-диметиламинооксиэтокси, т.е. группа O(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>ON(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, также известная как 2'-DMAOE, как описано в приведенных ниже примерах, и 2'-диметиламиноэтоксиэтокси (также известная в данной области техники как 2'-O-диметиламиноэтоксиэтил или 2'-DMAEOE), т.е. 2'-O--CH<sub>2</sub>--O--CH<sub>2</sub>--N(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>. Дополнительные иллюстративные модификации включают: 5'-Me-2'-F нуклеотиды, 5'-Me-2'-OMe нуклеотиды, 5'-Me-2'-дезоксинуклеотиды (R- и S-изомеры в этих трех семействах); 2'-алкоксиалкил; и 2'-NMA (N-метилацетамид).

Другие модификации включают 2'-метокси (2'-OCH<sub>3</sub>), 2'-аминопропокси (2'--OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>) и 2'-фтор (2'-F). Подобные модификации также могут быть сделаны в других положениях РНК, относящейся к иРНК, в частности, в 3'-положении сахара на 3'-концевом нуклеотиде или в 2'-5'-связанных дсРНК и в 5'-положении 5'-концевого нуклеотида. иРНК также могут включать миметики сахара, такие как циклобутильные фрагменты, вместо пентофуранозилового сахара. Репрезентативные патенты США, в которых рассказывается о получении таких структур модифицированного сахара, включают, без ограничения таковыми, патенты США № 4,981,957; 5 118 800; 5 319 080; 5 359 044; 5 393 878; 5 446 137; 5 466 786; 5 514 785; 5 519 134; 5 567 811; 5 576 427; 5 591 722; 5 597 909; 5 610 300; 5 627 053; 5 639 873; 5 646 265; 5 658 873; 5 670 633; и 5 700 920, некоторые из которых, как правило, включены в настоящее описание. Полное содержание каждого из вышеперечисленных включено в настоящее описание посредством ссылки.

иРНК также может включать модификации или замены азотистых оснований

(часто называемых в данной области просто «основаниями»). Используемый здесь термин «немодифицированные» или «природные» нуклеос основания включает пуриновые основания аденин (А) и гуанин (G) и пиримидиновые основания тимин (Т), цитозин (С) и урацил (U). Модифицированные азотистые основания включают другие синтетические и природные азотистые основания, такие как дезокситимин (dT), 5-метилцитозин (5-me-C), 5-гидроксиметилцитозин, ксантин, гипоксантин, 2-аминоаденин, 6-метил и другие алкильные производные аденина и гуанина, 2-пропил и другие алкилпроизводные аденина и гуанина, 2-тиоурацил, 2-тиотимин и 2-тиоцитозин, 5-галорацил и цитозин, 5-пропинилурацил и цитозин, 6-азоурацил, цитозин и тимин, 5-урацил (псевдоурацил), 4-тиоурацил, 8-галоген, 8-амино, 8-тиол, 8-тиоалкил, 8-гидроксил и другие 8-замещенные аденины и гуанины, 5-галоген, особенно 5-бром, 5-трифторметил и другие 5-замещенные урацилы и цитозины, 7-метилгуанин и 7-метиладенин, 8-азагуанин и 8-азааденин, 7-деазагуанин и 7-дезааденин, 3-деазагуанин и 3-дезааденин. Дополнительные азотистые основания включают основания, раскрытые в патенте США No. 3687808, раскрытые в *Modified Nucleosides in Biochemistry, Biotechnology and Medicine*, Herdewijn, P. ed. Wiley-VCH, 2008; раскрытые в *The Concise Encyclopedia Of Polymer Science And Engineering*, pages 858-859, Kroschwitz, J. L, ed. John Wiley & Sons, 1990, раскрытые *Englisch et al., Angewandte Chemie, International Edition*, 1991, 30, 613, и раскрытые *Sanghvi, Y S., Chapter 15, dcPHK Research and Applications*, pages 289-302, *Crooke, S. T. and Lebleu, B., Ed., CRC Press, 1993*. Некоторые из этих азотистых оснований особенно полезны для повышения аффинности связывания олигомерных соединений, представленных в изобретении. К ним относятся 5-замещенные пиримидины, 6-азапиримидины и N-2, N-6 и 0-6 замещенные пурины, включая 2-аминопропиладенин, 5-пропинилурацил и 5-пропинилцитозин. Было показано, что замены 5-метилцитозином повышают стабильность дуплекса нуклеиновой кислоты на 0,6-1,2°C (*Sanghvi, Y.S., Crooke, S.T. u Lebleu, B., Eds., dcPHK Research and Applications, CRC Press, Boca Raton, 1993, pp. 276-278*) и являются типичными заменами оснований, особенно в сочетании с модификациями 2'-О-метоксиэтилсахара.

Репрезентативные патенты США, в которых описано получение некоторых из указанных выше модифицированных азотистых оснований, а также других модифицированных азотистых оснований, включают, без ограничения таковыми, указанные выше патенты США №№ 3,687,808, 4,845,205; 5,130,30; 5 134 066; 5 175 273; 5 367 066; 5 432 272; 5 457 187; 5 459 255; 5 484 908; 5 502 177; 5 525 711; 5 552 540; 5 587 469; 5 594 121, 5 596 091; 5 614 617; 5 681 941; 5 750 692; 6 015 886; 6 147 200; 6 166 197; 6 222 025; 6 235 887; 6 380 368; 6 528 640; 6 639 062; 6 617 438; 7 045 610; 7 427 672; и 7,495,088, полное содержание каждого из которых включено в настоящее описание посредством ссылки.

РНК, принадлежащая иРНК также может быть модифицирована для включения одной или нескольких заблокированных нуклеиновых кислот (LNA, locked nucleic acids). Заблокированная нуклеиновая кислота представляет собой нуклеотид, имеющий модифицированную часть рибозы, в которой часть рибозы содержит дополнительный

мостик, соединяющий 2'- и 4'-углероды. Эта структура эффективно «запирает» рибозу в 3'-эндо структурной конформации. Было показано, что добавление заблокированных нуклеиновых кислот к siРНК увеличивает стабильность siРНК в сыворотке и снижает побочные эффекты (*Elmen, J. et al., (2005) Nucleic Acids Research 33(1):439-447; Mook OR et al., (2007) Mol Canc Ther 6(3):833-843, Grunweller A. et al., (2003) Nucleic Acids Research 31(12):3185-3193*).

В некоторых вариантах осуществления РНК иРНК также может быть модифицирована для включения одной или нескольких фрагментов бициклического сахара. «Бициклический сахар» представляет собой фуранозильное кольцо, модифицированное мостиковым соединением двух атомов. «Бициклический нуклеозид» («BNA») представляет собой нуклеозид, имеющий сахарный фрагмент, содержащий мостик, соединяющий два атома углерода сахарного кольца, таким образом образуя бициклическую кольцевую систему. В некоторых вариантах мостик соединяет 4'-углерод и 2'-углерод сахарного кольца. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления агент по изобретению может включать одну или более заблокированных нуклеиновых кислот (LNA). Заблокированная нуклеиновая кислота представляет собой нуклеотид, имеющий модифицированную часть рибозы, в которой часть рибозы содержит дополнительный мостик, соединяющий 2'- и 4'-углероды. Другими словами, LNA представляет собой нуклеотид, содержащий фрагмент бициклического сахара, содержащий мостик 4'-CH<sub>2</sub>-O-2'. Эта структура эффективно «запирает» рибозу в 3'-эндо структурной конформации. Было показано, что добавление заблокированных нуклеиновых кислот к siРНК увеличивает стабильность siРНК в сыворотке и снижает побочные эффекты (*Elmen, J. et al., (2005) Nucleic Acids Research 33(1):439-447; Mook OR et al., (2007) Mol Canc Ther 6(3):833-843, Grunweller A. et al., (2003) Nucleic Acids Research 31(12):3185-3193*). Примеры бициклических нуклеозидов для применения в полинуклеотидах по изобретению включают без ограничения нуклеозиды, содержащие мостик между 4'- и 2'-атомами рибозильного кольца. В некоторых вариантах осуществления антисмысловые полинуклеотидные агенты по изобретению включают один или более бициклических нуклеозидов, содержащих мостик с 4'-2'. Примеры таких бициклических нуклеозидов, соединенных мостиком 4'-2', включают, без ограничения таковыми, 4'-(CH<sub>2</sub>)-O-2' (LNA); 4'-(CH<sub>2</sub>)-S-2'; 4'-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-O-2' (ENA); 4'-CH(CH<sub>3</sub>)-O-2' (также обозначаемый как "ограниченный этил" или "cEt") и 4'-CH(CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>)-O-2' (и аналоги такового; см., например, патент США №7399845); 4'-C(CH<sub>3</sub>)(CH<sub>3</sub>)-O-2' (и аналоги такового; см., например, патент США № 8278283); 4'-CH<sub>2</sub>-N(OCH<sub>3</sub>)-2' (и аналоги такового; см., например, патент США № 8278425); 4'-CH<sub>2</sub>-O-N(CH<sub>3</sub>)-2' (см., например, публикацию патента США № 2004/0171570); 4'-CH<sub>2</sub>-N(R)-O-2', где R представляет собой H, C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> алкил или защитную группу (см., например, патент США № 7427672); 4'-CH<sub>2</sub>-C(H)(CH<sub>3</sub>)-2' (см., например, *Chattopadhyaya et al., J. Org. Chem., 2009, 74, 118-134*); и 4'-CH<sub>2</sub>-C(=CH<sub>2</sub>)-2' (и аналоги такового; см., например, патент США №8,278,426). Полное содержание каждого из вышеперечисленных включено в настоящее описание

посредством ссылки.

Дополнительные репрезентативные патенты США и публикации патентов США, в которых рассказывается о получении закрытых нуклеотидов нуклеиновых кислот, включают, без ограничения таковыми, следующие: патенты США № 6,268,490; 6 525 191; 6 670 461; 6 770 748; 6 794 499; 6 998 484; 7 053 207; 7 034 133; 7 084 125; 7 399 845; 7 427 672; 7 569 686; 7 741 457; 8 022 193; 8 030 467; 8 278 425; 8 278 426; 8 278 283; США 2008/0039618; и US 2009/0012281, полное содержание каждого из которых включено в настоящее описание посредством ссылки.

Любой из указанных выше бициклических нуклеозидов может быть получен с одной или несколькими стереохимическими конфигурациями сахаров, включая, например,  $\alpha$ -L-рибофуранозу и  $\beta$ -D-рибофуранозу (см. WO 99/14226).

РНК, принадлежащая иРНК, также может быть модифицирована для включения одного или более ограниченных этиловых нуклеотидов. Используемый здесь термин «ограниченный этиловый нуклеотид» или «cEt» представляет собой заблокированную нуклеиновую кислоту, содержащую фрагмент бициклического сахара, включающий мостик 4'-CH(CH<sub>3</sub>)-O-2'. В одном варианте осуществления ограниченный этиловый нуклеотид находится в S-конформации, именуемой здесь «S-cEt».

иРНК по изобретению может также включать один или более «конформационно ограниченных нуклеотидов» («CRN»). CRN представляют собой аналоги нуклеотидов с линкером, соединяющим атомы углерода C2' и C4' рибозы или атомы углерода C3' и C5' рибозы. CRN фиксирует кольцо рибозы в стабильной конформации и увеличивает сродство при гибридизации с мРНК. Линкер имеет достаточную длину, чтобы поместить кислород в оптимальное положение для стабильности и сродства, что приводит к меньшему искажению кольца рибозы.

Репрезентативные публикации, в которых рассказывается о получении некоторых из указанных выше CRN, включают, без ограничения таковыми, патентную публикацию США № 2013/0190383; и публикации PCT WO 2013/036868, полное содержание каждой из которых включено в настоящее описание посредством ссылки.

В некоторых вариантах осуществления иРНК по изобретению содержит один или более мономеров, представляющих собой нуклеотиды UNA (разблокированная нуклеиновая кислота). UNA представляет собой разблокированную ациклическую нуклеиновую кислоту, в которой любая из связей сахара была удалена, в результате чего образуется разблокированный «сахарный» остаток. В одном примере UNA также включает мономер с удаленными связями между C1'-C4' (т.е. ковалентная связь углерод-кислород-углерод между атомами углерода C1' и C4'). В другом примере связь C2'-C3' (т.е. ковалентная углерод-углеродная связь между атомами углерода C2' и C3') сахара удалена (см. *Nuc. Acids Symp. Series*, 52, 133-134 (2008).) и *Fluiter et al., Mol. Biosyst.*, 2009, 10, 1039, содержание которого включено в настоящее описание посредством ссылки).

Типичные публикации США, в которых рассказывается о подготовке UNA, включают, без ограничения таковыми, патент США № 8 314 227; и публикации патентов

США № 2013/0096289; 2013/0011922; и 2011/0313020, полное содержание каждого из которых включено в настоящее описание посредством ссылки.

Потенциально стабилизирующие модификации концов молекул РНК могут включать N-(ацетиламинокапроил)-4-гидроксипролинол (Нур-С6-ННАс), N-(капроил-4-гидроксипролинол (Нур-С6), N-(ацетил-4-гидроксипролинол (Нур-ННАс), тимидин-2'-0-дезокситимидин (эфир), N-(аминокапроил)-4-гидроксипролинол (Нур-С6-амино), 2-докозаноилуридин-3"-фосфат, инвертированное основание dT( idT) и др. Описание данной модификации можно найти в публикации РСТ № WO 2011/005861.

Другие модификации нуклеотидов иРНК по изобретению включают 5'-фосфат или 5'-имитатор фосфата, например, 5'-концевой фосфат или фосфатный имитатор на антисмысловой цепи иРНК. Подходящие имитаторы фосфатов раскрыты, например, в публикации патента США № 2012/0157511, полное содержание которого включено в настоящее описание посредством ссылки.

#### *А. Модифицированные иРНК, содержащие мотивы изобретения*

В некоторых аспектах изобретения двухцепочечные РНК-агенты по изобретению включают агенты с химическими модификациями, как описано, например, в WO 2013/075035, полное содержание которого включено в настоящее описание посредством ссылки. В WO 2013/075035 представлены мотивы трех идентичных модификаций трех последовательных нуклеотидов в смысловой цепи или антисмысловой цепи агента дсРНКи, в частности, в сайте расщепления или рядом с ним. В некоторых вариантах осуществления смысловая цепь и антисмысловая цепь агента дсРНКи могут быть полностью модифицированы. Введение этих мотивов прерывает паттерн модификации, если он присутствует, в смысловой или антисмысловой нити. дсРНКи агент может быть необязательно конъюгирован с лигандом, производным GalNAc, например, на смысловой цепи.

Более конкретно, когда смысловая цепь и антисмысловая цепь двухцепочечного РНК-агента полностью модифицированы для получения один или более мотивов из трех идентичных модификаций на трех последовательных нуклеотидах в сайте расщепления по меньшей мере одной цепи дсРНКи-агента или рядом с ним, то наблюдается активный сайленсинг генов дсРНКи агентом.

Соответственно, изобретение относится к двухцепочечным РНК-агентам, способным ингибировать экспрессию гена-мишени (т.е. гена PNPLA3) *in vivo*. РНКи агент содержит смысловую цепь и антисмысловую цепь. Каждая цепь агента РНКи может иметь, например, длину 17-30 нуклеотидов, длину 25-30 нуклеотидов, длину 27-30 нуклеотидов, длину 19-25 нуклеотидов, длину 19-23 нуклеотида, длину 19-21 нуклеотида, длину 21-25 нуклеотидов или длину 21-23 нуклеотида.

Смысловая цепь и антисмысловая цепь обычно образуют дуплексную двухцепочечную РНК («дсРНК»), также называемую в настоящем изобретении «дсРНКи агентом». Дуплексная область дсРНКи агента может иметь длину 27-30 пар нуклеотидов, длину 19-25 пар нуклеотидов, длину 19-23 пар нуклеотидов, длину 19-21 пар нуклеотидов,



длину 21-25 пар нуклеотидов или длину 21-23 пары нуклеотидов. В другом примере длина дуплексной области выбрана из 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26 и 27 нуклеотидов.

В некоторых вариантах осуществления дсРНКи агент может содержать одну или более выступающих областей или копирующих групп на 3'-конце, 5'-конце или на обоих концах одной или обеих цепей. Выступ может иметь длину независимо от 1 до 6 нуклеотидов, например, от 2 до 6 нуклеотидов, от 1 до 5 нуклеотидов, от 2 до 5 нуклеотидов, от 1 до 4 нуклеотидов, от 2 до 4 нуклеотидов, 1-3 нуклеотида в длину, 2-3 нуклеотида в длину или 1-2 нуклеотида в длину. В некоторых вариантах осуществления выступления могут включать удлиненные выступления, как указано выше. Выступы могут быть результатом того, что одна цепь длиннее другой, или результатом расположения двух цепей одинаковой длины в шахматном порядке. Выступ может образовывать несовпадение с мРНК-мишенью, или может быть комплементарным последовательности целевого гена, или может быть другой последовательностью. Первая и вторая цепи также могут быть соединены, например, дополнительными основаниями для образования шпильки или другими линкерами, не содержащими оснований.

В некоторых вариантах осуществления каждый из нуклеотидов в выступающей области дсРНКи агента может независимо представлять собой модифицированный или немодифицированный нуклеотид, включающий, помимо прочего, модифицированный 2'-сахар, такой как 2'-F, 2'-O-метил тимидин (Т), 2'-O-метоксиэтил-5-метилуридин (Тео), 2'-O-метоксиэтиладенозин (Аео), 2'-O-метоксиэтил-5-метилцитидин (m5Ceо) и любые комбинации таковых.

Например, ТТ может представлять собой выступающую последовательность для любого конца любой цепи. Выступ может формировать несовпадение с мРНК-мишенью, или он может быть комплементарным последовательности целевого гена, или может быть другой последовательностью.

5'- или 3'-выступы смысловой цепи, антисмысловой цепи или обеих цепей дсРНКи агента могут быть фосфорилированы. В некоторых вариантах осуществления выступающий(е) участок(ки) содержит два нуклеотида, содержащих фосфотиоат между двумя нуклеотидами, и два нуклеотида могут быть одинаковыми или разными. В некоторых вариантах осуществления выступающий конец присутствует на 3'-конце смысловой цепи, антисмысловой цепи или обеих цепей. В некоторых вариантах осуществления этот 3'-концевой выступ присутствует в антисмысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления этот 3'-концевой выступ присутствует в смысловой цепи.

дсРНКи агенті может содержать только один выступ, что может усиливать интерференционную активность РНКи, не влияя на ее общую стабильность. Например, одноцепочечный концевой выступ может быть расположен на 3'-конце смысловой цепи или, альтернативно, на 3'-конце антисмысловой цепи. РНКи также может иметь тупой конец, расположенный на 5'-конце антисмысловой цепи (или на 3'-конце смысловой цепи) или наоборот. Как правило, антисмысловая цепь дсРНКи агента имеет выступающий нуклеотид на 3'-конце, а 5'-конец является тупым. Без привязки к теории,

асимметричный тупой конец на 5'-конце антисмысловой цепи и выступающий 3'-конец антисмысловой цепи способствуют участию направляющей цепи в RISC-обусловленном процессе.

В некоторых вариантах осуществления дсРНКи агент представляет собой элемент с двумя тупыми концами длиной 19 нуклеотидов, где смысловая цепь содержит по меньшей мере один мотив из трех модификаций 2'-F на трех последовательных нуклеотидах в положениях 7, 8, 9 от 5'-конца. Антисмысловая цепь содержит по меньшей мере один мотив из трех 2'-О-метил- модификаций на трех последовательных нуклеотидах в положениях 11, 12, 13 от 5'-конца.

В других вариантах осуществления дсРНКи агент представляет собой элемент с двумя тупыми концами длиной 20 нуклеотидов, где смысловая цепь содержит по меньшей мере один мотив из трех модификаций 2'-F на трех последовательных нуклеотидах в положениях 8, 9, 10 от 5'-конца. Антисмысловая цепь содержит по меньшей мере один мотив из трех 2'-О-метил- модификаций на трех последовательных нуклеотидах в положениях 11, 12, 13 от 5'-конца.

В других вариантах осуществления дсРНКи агент представляет собой элемент с двумя тупыми концами длиной в 21 нуклеотид, где смысловая цепь содержит по меньшей мере один мотив из трех модификаций 2'-F на трех последовательных нуклеотидах в положениях 9, 10, 11 от 5'-конца. Антисмысловая цепь содержит по меньшей мере один мотив из трех 2'-О-метил- модификаций трех последовательных нуклеотидах в положениях 11, 12, 13 от 5'-конца.

В некоторых вариантах осуществления дсРНКи агент содержит смысловую цепь из 21 нуклеотида и антисмысловую цепь из 23 нуклеотидов, где смысловая цепь содержит по меньшей мере один мотив из трех модификаций 2'-F на трех последовательных нуклеотидах в положениях 9, 10, 11 от 5'-конца; антисмысловая цепь содержит по меньшей мере один мотив из трех 2'-О-метил- модификаций на трех последовательных нуклеотидах в положениях 11, 12, 13 от 5'-конца, при этом один конец РНКи-агента тупой, а другой конец содержит 2 выступающих нуклеотида. Предпочтительно концевой выступ из 2 нуклеотидов находится на 3'-конце антисмысловой цепи.

Когда 2 выступающих нуклеотида находятся на 3'-конце антисмысловой цепи, между тремя концевыми нуклеотидами могут находиться две фосфоротиоатные межнуклеотидные связи, где два из трех нуклеотидов являются выступающими нуклеотидами, а третий нуклеотид представляет собой спаренный нуклеотид, прилежащий к выступающему нуклеотиду. В одном варианте осуществления РНКи агент дополнительно имеет две фосфоротиоатные межнуклеотидные связи между тремя концевыми нуклеотидами как на 5'-конце смысловой цепи, так и на 5'-конце антисмысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления каждый нуклеотид в смысловой цепи и антисмысловой цепи дсРНКи агента, включая нуклеотиды, являющиеся частью мотивов, представляют собой модифицированный нуклеотид. В некоторых вариантах осуществления каждый остаток независимо модифицирован 2'-О-метилом или

3'-фтором, например, в чередующемся мотиве. Необязательно дсРНКи агент дополнительно содержит лиганд (предпочтительно GalNAc3).

В некоторых вариантах осуществления дсРНКи агент содержит смысловую и антисмысловую цепи, где смысловая цепь имеет длину 25-30 нуклеотидных остатков, причем, начиная с 5'-концевого нуклеотида (положение 1), положения с 1 по 23 первой цепи содержат по меньшей мере 8 рибонуклеотидов; антисмысловая цепь имеет длину 36-66 нуклеотидных остатков и, начиная с 3'-концевого нуклеотида, содержит не менее 8 рибонуклеотидов в положениях, спаренных с положениями 1-23 смысловой цепи с образованием дуплекса; где по меньшей мере 3'-концевой нуклеотид антисмысловой цепи не спарен со смысловой цепью, и до 6 последовательных 3'-концевых нуклеотидов не спарены со смысловой цепью, тем самым образуя 3'-концевой выступ из 1-6 нуклеотидов; при этом 5'-конец антисмысловой цепи содержит от 10 до 30 последовательных нуклеотидов, которые не спарены со смысловой цепью, тем самым образуя одноцепочечный 5'-выступ из 10-30 нуклеотидов; где по меньшей мере 5'-концевые и 3'-концевые нуклеотиды смысловой цепи спарены по основаниям с нуклеотидами антисмысловой цепи, при условии, что смысловая и антисмысловая цепи выровнены для максимальной комплементарности, и тем самым образуют по существу дуплексную область между смысловой и антисмысловой цепями; также антисмысловая цепь достаточно комплементарна РНК-мишени, что обеспечивается по меньшей мере 19 рибонуклеотидами длины антисмысловой цепи, с целью снижения экспрессии гена-мишени при введении двухцепочечной нуклеиновой кислоты в клетку млекопитающего; и при этом смысловая цепь содержит по меньшей мере один мотив из трех модификаций 2'-F на трех последовательных нуклеотидах, где, по меньшей мере, один из мотивов находится в сайте расщепления или непосредственно рядом с ним. Антисмысловая цепь содержит по меньшей мере один мотив из трех 2'-O-метил-модификаций на трех последовательных нуклеотидах в сайте расщепления или непосредственно рядом с ним.

В некоторых вариантах осуществления дсРНКи агент содержит смысловую и антисмысловую цепи, при этом дсРНКи агент содержит первую цепь длиной не менее 25 и не более 29 нуклеотидов и вторую цепь длиной не более 30 нуклеотидов, имеющую не менее одного мотива из трех 2'-O-метил-модификаций на трех последовательных нуклеотидах в положениях 11, 12, 13 от 5'-конца; при этом 3'-конец первой цепи и 5'-конец второй цепи образуют тупой конец, а вторая цепь на 3'-конце длиннее на 1-4 нуклеотида, чем первая цепь, при этом дуплексная область составляет не менее 25 нуклеотидов в длину, а вторая цепь достаточно комплементарна целевой мРНК (что обеспечивается по меньшей мере 19 нуклеотидами второй цепи), чтобы уменьшить экспрессию гена-мишени при введении РНКи агента в клетку млекопитающего, и при этом расщепление дсРНКи агента ферментом Dicer предпочтительно приводит к siРНК, содержащей 3'-конец второй цепи, таким образом уменьшая экспрессию гена-мишени млекопитающего. Необязательно, дсРНКи агент дополнительно содержит лиганд.

В некоторых вариантах осуществления смысловая цепь агента дсРНКи содержит

по меньшей мере один мотив из трех идентичных модификаций трех последовательных нуклеотидов, где один из мотивов находится в сайте расщепления в смысловой цепи.

В некоторых вариантах осуществления антисмысловая цепь дсРНКи агента также может содержать по меньшей мере один мотив из трех идентичных модификаций трех последовательных нуклеотидов, где один из мотивов находится в сайте расщепления или вблизи него в антисмысловой цепи.

Для дсРНКи агента, имеющего дуплексную область длиной 19-23 нуклеотида, сайт расщепления антисмысловой цепи обычно находится в положениях 10, 11 и 12 от 5'-конца. Таким образом, мотивы трех одинаковых модификаций могут находиться в 9, 10, 11 положениях; 10, 11, 12 положениях; 11, 12, 13 положениях; 12, 13, 14 положениях; или 13, 14, 15 положениях антисмысловой цепи, где отсчет начинается с первого нуклеотида 5'-конца антисмысловой цепи, или с первого спаренного нуклеотида в области дуплекса 5'-конца антисмысловой цепи. Сайт расщепления в антисмысловой цепи также может изменяться в зависимости от длины дуплексной области дсРНКи агента от 5'-конца.

Смысловая цепь дсРНКи агента может содержать по меньшей мере один мотив из трех идентичных модификаций трех последовательных нуклеотидов в сайте расщепления; а антисмысловая цепь может иметь по меньшей мере один мотив из трех идентичных модификаций трех последовательных нуклеотидов в сайте расщепления цепи или рядом с ним. Когда смысловая цепь и антисмысловая цепь образуют дсРНК дуплекс, смысловая цепь и антисмысловая цепь могут быть выровнены таким образом, что один мотив из трех нуклеотидов смысловой цепи и один мотив из трех нуклеотидов антисмысловой цепи имеют по меньшей мере перекрывание в один нуклеотид, то есть по меньшей мере один из трех нуклеотидов мотива в смысловой цепи образует пару оснований по меньшей мере с одним из трех нуклеотидов мотива в антисмысловой цепи. Альтернативно, по меньшей мере два нуклеотида могут перекрываться или все три нуклеотида могут перекрываться.

В некоторых вариантах осуществления смысловая цепь дсРНКи агента может содержать более одного мотива из трех идентичных модификаций трех последовательных нуклеотидов. Первый мотив может встречаться в сайте расщепления цепи или рядом с ним, а другие мотивы могут быть модификацией прилегающей области. Термин «модификация прилегающей области» в настоящем изобретении относится к мотиву, находящемуся на другом участке цепи, отделенному от мотива в сайте расщепления той же цепи или рядом с ним. Модификация прилегающей области либо прилегает к первому мотиву, либо отделена по меньшей мере одним или более нуклеотидами. Если мотивы непосредственно примыкают друг к другу, то химический состав мотивов отличается друг от друга, а если мотивы разделены одним или более нуклеотидами, то химический состав таковых может быть одинаковым или разным. Могут присутствовать две или более модификации прилегающей области. Например, когда присутствуют две модификации прилегающей области, каждая модификация прилегающей области может происходить с одной стороны по отношению к первому мотиву, находящемуся в сайте расщепления или вблизи него, или по обе стороны от ведущего мотива.

Подобно смысловой цепи, антисмысловая цепь дсРНКи агента может содержать более одного мотива из трех идентичных модификаций трех последовательных нуклеотидов, при этом по меньшей мере один из мотивов находится в сайте расщепления цепи или рядом с ним. Такая антисмысловая цепь может также содержать одну или более модификаций прилежащих областей в положениях, аналогичном модификациям прилежащих областей, которые могут присутствовать на смысловой цепи.

В некоторых вариантах осуществления модификация прилежащей области на смысловой или антисмысловой цепи дсРНКи агента обычно не включает первые один или два концевых нуклеотида на 3'-конце, 5'-конце или на обоих концах цепи.

В других вариантах осуществления модификация прилежащей области на смысловой или антисмысловой цепи дсРНКи агента обычно не включает первые один или два спаренных нуклеотида в области дуплекса на 3'-конце, 5'-конце или обоих концах цепи.

Если смысловая цепь и антисмысловая цепь дсРНКи агента содержат по меньшей мере одну модификацию прилежащей области, то модификации прилежащей области могут приходиться на один и тот же конец дуплексной области и иметь перекрывающиеся один, два или три нуклеотида.

Если смысловая цепь и антисмысловая цепь дсРНКи агента содержат по меньшей мере две модификации крыла, то смысловая цепь и антисмысловая цепь могут быть выровнены таким образом, что две модификации каждой из цепей попадают на один конец дуплексной области, формируя перекрывания из одного, двух или трех нуклеотидов; две модификации каждой из цепей попадают на другой конец дуплексного участка, формируя перекрывания в один, два или три нуклеотида; две модификации одной цепи приходятся на каждую сторону ведущего мотива, формируя перекрывание в один, два или три нуклеотида в области дуплекса.

В некоторых вариантах осуществления каждый нуклеотид в смысловой цепи и антисмысловой цепи дсРНКи агента, включая нуклеотиды, являющиеся частью мотивов, может быть модифицирован. Каждый нуклеотид может быть модифицирован одной и той же или отличной модификацией, которая может включать одно или более изменений одного или обоих несвязывающих атомов кислорода фосфата или одного или более связывающих атомов кислорода фосфата; изменение компонента рибозного сахара, например, 2'-гидроксила рибозного сахара; полная замена фосфатного фрагмента линкерами «дефосфо»; модификация или замена природного основания; и замена или модификация рибозо-фосфатного остова.

Поскольку нуклеиновые кислоты представляют собой полимеры субъединиц, многие из модификаций происходят в позиции, которая повторяется внутри нуклеиновой кислоты, например, модификация основания или фосфатного фрагмента, или несвязывающего О (кислорода) фосфатного фрагмента. В некоторых случаях модификация будет происходить во всех позициях в нуклеиновой кислоте, но во многих случаях этого не происходит. Например, модификация может происходить только в 3'-

или 5'-концевом положении, может происходить только в концевой области, например, в позиции концевого нуклеотида или в последних 2, 3, 4, 5, или 10 нуклеотидов цепи. Модификация может происходить в области двухцепочечной, одноцепочечной области или в обеих областях. Модификация может происходить только в двухцепочечной области РНК или только в одноцепочечной области РНК. Например, тиофосфатная модификация в несвязывающем положении О (кислорода) может происходить на одном или обоих концах, может происходить только в концевой области, например, в позиции на концевом нуклеотиде или в последних 2, 3, 4, 5, или 10 нуклеотидов в цепи, или может встречаться в двухцепочечных и одноцепочечных областях, особенно на концах. 5'-конец или оба конца могут быть фосфорилированы.

Возможно, например, повысить стабильность, включая определенные основания в выступы или включая модифицированные нуклеотиды или заменители нуклеотидов в одноцепочечные выступы, например, в 5'- или 3'-выступы, или в оба концевых выступа. Например, может быть желательно включить пуриновые нуклеотиды в выступы. В некоторых вариантах осуществления все или некоторые основания 3'- или 5'-выступа могут быть модифицированы, например, с помощью модификации, описанной в настоящем изобретении. Модификации могут включать, например, модификации в 2'-позиции сахара рибозы и модификации, известные в данной области техники, например, при использовании дезоксирибонуклеотидов, использовании 2'-дезоксидезокси-2'-фтор (2'-F) или 2'-О-метил- модификации вместо модификации рибосахара азотистого основания, и модификации фосфатной группы, например, фосфоротиоатные модификации. Выступы необязательно должны быть гомологичны целевой последовательности.

В некоторых вариантах осуществления каждый остаток смысловой и антисмысловой цепей независимо модифицирован LNA, CRN, cET, UNA, HNA, CeNA, 2'-метоксиэтилом, 2'-О-метилом, 2'-О-аллилом, 2'-С-аллил, 2'-дезоксидезокси, 2'-гидрокси или 2'-фтором. Цепи могут содержать более одной модификации. В одном варианте осуществления каждый остаток смысловой и антисмысловой цепей независимо модифицирован 2'-О-метилом или 2'-фтором.

Как правило, на смысловой и антисмысловой цепях присутствуют по меньшей мере две различные модификации. Этими двумя модификациями могут быть 2'-О-метил или 2'-фтор модификациями или другие.

В некоторых вариантах осуществления  $N_a$  или  $N_b$  содержат модификации чередующегося паттерна. Используемый здесь термин «чередующийся мотив» относится к мотиву, имеющему одну или более модификаций, причем каждая модификация происходит на чередующихся нуклеотидах одной цепи. Чередующийся нуклеотид может приходиться на каждый второй нуклеотид или на каждые три нуклеотида или чередоваться по аналогичной схеме. Например, если каждый из А, В и С представляет один тип модификации нуклеотида, чередующийся мотив может быть «АВАВАВАВАВАВАВ...», «ААВВААВВААВВ...», «ААВААВААВААВ...», «АААВАААВАААВ...», «АААВВВАААВВВ...» или «АВСАВСАВСАВС...» и т. д.

Тип модификаций, содержащихся в чередующемся мотиве, может быть одинаковым или разным. Например, если каждый из А, В, С, D представляет один тип модификации нуклеотида, схема чередования, т. е. порядка модификаций каждого другого нуклеотида, может быть одинаковой, но может быть выбрана для каждой из смысловых или антисмысловых цепей из нескольких возможных модификаций в чередующемся мотиве, таких как «АВАВАВ...», «АСАСАС...», «ВДВДВД...» или «СДСДСД...» и т. д.

В некоторых вариантах осуществления дсРНКи агент по изобретению содержит паттерн модификации чередующегося мотива на смысловой цепи, сдвинутый по отношению к паттерну модификации чередующегося мотива на антисмысловой цепи. Сдвиг может быть таким, что модифицированная группа нуклеотидов смысловой цепи соответствует другой модифицированной группе нуклеотидов антисмысловой цепи и наоборот. Например, для смысловой цепи в паре с антисмысловой цепью в дуплексе дсРНК чередующийся мотив в смысловой цепи может начинаться с «АВАВАВ» от 5' до 3' цепи, а чередующийся мотив в антисмысловой цепи может начинаться с «ВАВАВА» от 5' до 3' цепи в области дуплекса. В качестве другого примера, чередующийся мотив в смысловой цепи может начинаться с «ААВВААВВ» от 5' до 3' цепи, а чередующийся мотив в антисмысловой цепи может начинаться с «ВВААВВАА» от 5' до 3' цепи внутри дуплексной области, при этом происходит полный или частичный сдвиг паттернов модификации между смысловой цепью и антисмысловой цепью.

В некоторых вариантах осуществления дсРНКи агент содержит паттерн чередующегося мотива 2'-О-метильной модификации и 2'-F-модификации на смысловой цепи, который изначально имеет сдвиг относительно паттерна чередующегося мотива 2'-О-метильной модификации и 2'-F модификации на антисмысловой цепи, т. е. 2'-О-метил модифицированный нуклеотид на смысловой цепи спаривается с 2'-F модифицированным нуклеотидом на антисмысловой цепи и наоборот. Положение 1 смысловой цепи может начинаться с модификации 2'-F, а положение 1 антисмысловой цепи может начинаться с 2'-О-метил модификации.

Введение одного или более мотивов трех идентичных модификаций трех последовательных нуклеотидов в смысловую цепь или антисмысловую цепь прерывает исходный паттерн модификации, присутствующий в смысловой цепи или антисмысловой цепи. Это прерывание паттерна модификации смысловой или антисмысловой цепи путем введения одного или более мотивов из трех идентичных модификаций трех последовательных нуклеотидов в смысловую или антисмысловую цепь может усиливать активность подавления гена-мишени.

В некоторых вариантах осуществления, если мотив из трех идентичных модификаций трех последовательных нуклеотидов вводится в любую из цепей, то модификация нуклеотида, следующего за мотивом, представляет собой модификацию, отличную от модификации мотива. Например, часть последовательности, содержащая мотив, может представлять собой «...N<sub>a</sub>YYYN<sub>b</sub>...», где «Y» представляет собой модификацию мотива из трех идентичных модификаций на трех последовательных

нуклеотидах, а “N<sub>a</sub>” и “N<sub>b</sub>” представляют собой модификацию нуклеотида рядом с мотивом «YYY», которая отличается от модификации Y, где “N<sub>a</sub>” и “N<sub>b</sub>” могут быть одинаковыми или различными модификациями. Альтернативно, “N<sub>a</sub>” и “N<sub>b</sub>” могут присутствовать или отсутствовать, если присутствует модификация прилегающей области.

иРНК может дополнительно содержать по меньшей мере одну фосфоротиоатную или метилфосфонатную межнуклеотидную связь. Модификация фосфоротиоатной или метилфосфонатной межнуклеотидной связи может происходить на любом нуклеотиде смысловой цепи, антисмысловой цепи или на обеих цепях в любом положении. Например, модификация межнуклеотидной связи может происходить на каждом нуклеотиде смысловой или антисмысловой цепи; каждая модификация межнуклеотидной связи может происходить в чередующемся порядке на смысловой или антисмысловой цепи; или смысловая цепь или антисмысловая цепь могут содержать обе модификации межнуклеотидной связи в чередующемся порядке. Чередующийся паттерн модификации межнуклеотидной связи на смысловой цепи может быть таким же или отличным от паттерна антисмысловой цепи, а чередующийся паттерн модификации межнуклеотидной связи в смысловой цепи может иметь сдвиг относительно чередующегося паттерна модификации межнуклеотидной связи на антисмысловой цепи. В одном варианте осуществления агент двухцепочечной РНК-интерференции содержит 6-8 фосфоротиоатных межнуклеотидных связей. В некоторых вариантах осуществления антисмысловая цепь содержит две тиофосфатные межнуклеотидные связи на 5'-конце и две тиофосфатные межнуклеотидные связи на 3'-конце, а смысловая цепь содержит по меньшей мере две тиофосфатные межнуклеотидные связи либо на 5'-конце, либо на 3'-конце.

В некоторых вариантах осуществления дсРНКи агент содержит модификацию фосфоротиоатной или метилфосфонатной межнуклеотидной связи в выступающей области. Например, выступающий участок может содержать два нуклеотида, имеющих фосфоротиоатную или метилфосфонатную межнуклеотидную связь между ними. Модификации межнуклеотидной связи также могут быть сделаны для связывания выступающих нуклеотидов с концевыми спаренными нуклеотидами в области дуплекса. Например, по меньшей мере 2, 3, 4 или все выступающие нуклеотиды могут быть связаны посредством фосфоротиоатной или метилфосфонатной межнуклеотидной связи, и необязательно могут существовать дополнительные фосфоротиоатные или метилфосфонатные межнуклеотидные связи, связывающие выступающий нуклеотид со спаренным нуклеотидом, находящимся рядом с выступающим нуклеотидом. Например, могут существовать по меньшей мере две фосфоротиоатные межнуклеотидные связи между тремя концевыми нуклеотидами, в которых два из трех нуклеотидов являются выступающими нуклеотидами, а третий является спаренным нуклеотидом рядом с выступающим нуклеотидом. Эти концевые три нуклеотида могут находиться на 3'-конце антисмысловой цепи, 3'-конце смысловой цепи, 5'-конце антисмысловой цепи или 5'-конце антисмысловой цепи.



В некоторых вариантах осуществления концевой выступ из 2 нуклеотидов находится на 3'-конце антисмысловой цепи, и между тремя концевыми нуклеотидами имеются две фосфоротиоатные межнуклеотидные связи, где два из трех нуклеотидов являются выступающими нуклеотидами, а третий нуклеотид представляет собой спаренный нуклеотид рядом с выступающим нуклеотидом. Необязательно, дсРНКи агент может дополнительно иметь две фосфоротиоатные межнуклеотидные связи между тремя концевыми нуклеотидами как на 5'-конце смысловой цепи, так и на 5'-конце антисмысловой цепи.

В одном варианте осуществления дсРНКи агент содержит мисматч (несоответствие(я)) с мишенью или в пределах дуплекса или комбинацию таковых. несоответствие может возникнуть в области выступа или области дуплекса. Пара оснований может быть ранжирована на основе их склонности способствовать диссоциации или плавлению (например, по свободной энергии ассоциации или диссоциации) конкретной пары, и самый простой подход состоит в анализе индивидуальных конкретных пар, хотя «соседи (таких пар)» тоже могут быть использованы (или применен аналогичный анализ). С точки зрения стимуляции диссоциации A:U является предпочтительнее чем G:C; G:U предпочтительнее G:C; и I:C предпочтительнее G:C (I=инозин). несоответствия, например, неканонические или отличные от канонического спаривания (как описано в другом месте настоящего документа), предпочтительнее канонических (A:T, A:U, G:C) пар; и пары, включающие универсальное основание, предпочтительнее канонических пар.

В некоторых вариантах осуществления дсРНКи агент содержит по меньшей мере одну из первых 1, 2, 3, 4 или 5 пар оснований в областях дуплекса от 5'-конца антисмысловой цепи, которая независимо выбрана из группы, включающей A:U, G:U, I:C и несоответствующие пары, например, неканонические или отличные от канонических пары или пары, включающие универсальное основание, чтобы способствовать диссоциации антисмысловой цепи на 5'-конце дуплекса.

В некоторых вариантах осуществления нуклеотид в положении 1 в области дуплекса от 5'-конца антисмысловой цепи выбран из A, dA, dU, U и dT. Альтернативно, по меньшей мере одна из первых 1, 2 или 3 пар оснований в области дуплекса от 5'-конца антисмысловой цепи представляет собой пару оснований AU. Например, первая пара оснований в области дуплекса от 5'-конца антисмысловой цепи представляет собой пару оснований AU.

В других вариантах осуществления нуклеотид на 3'-конце смысловой цепи представляет собой дезокситимин (dT) или нуклеотид на 3'-конце антисмысловой цепи представляет собой дезокситимин (dT). Например, на 3'-конце смысловой, антисмысловой цепи или обеих цепей присутствует короткая последовательность дезокситиминовых нуклеотидов, например, два нуклеотида dT.

В некоторых вариантах осуществления последовательность смысловой цепи может быть представлена формулой (I):



в которой:

каждый из  $i$  и  $j$  независимо равен 0 или 1;

каждый из  $p$  и  $q$  независимо равен 0-6;

каждый  $N_a$  независимо представляет собой олигонуклеотидную последовательность, содержащую 0-25 модифицированных нуклеотидов, причем каждая последовательность содержит по меньшей мере два по-разному модифицированных нуклеотида;

каждый  $N_b$  независимо представляет собой олигонуклеотидную последовательность, содержащую 0-10 модифицированных нуклеотидов;

каждый  $n_p$  и  $n_q$  независимо представляет собой выступающий нуклеотид;

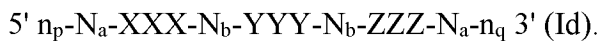
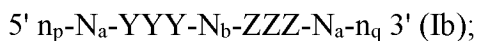
где  $N_b$  и  $Y$  не имеют одинаковых модификаций; а также

$XXX$ ,  $YYY$  и  $ZZZ$ , каждый независимо друг от друга, представляют один мотив из трех идентичных модификаций трех последовательных нуклеотидов. Предпочтительно  $YYY$  представляет собой мотив, где все нуклеотиды имеют 2'-F- модификацию.

В некоторых вариантах осуществления  $N_a$  и  $N_b$  содержат модификации с чередующимся паттерном.

В некоторых вариантах осуществления мотив  $YYY$  находится в сайте расщепления смысловой цепи или рядом с ним. Например, если дсРНКи агент имеет дуплексную область длиной 17-23 нуклеотида, то мотив  $YYY$  может встречаться в сайте расщепления или вблизи от него (например, может встречаться в положениях 6, 7, 8; 7, 8, 9). 8, 9, 10, 9, 10, 11, 10, 11, 12 или 11, 12, 13) на смысловой цепи, где отсчет начинается с первого нуклеотида, с 5'-конца; или, необязательно, отсчет начинается с первого спаренного нуклеотида в области дуплекса с 5'-конца.

В одном варианте осуществления  $i$  равно 1, а  $j$  равно 0, или  $i$  равно 0, и  $j$  равно 1, или оба  $i$  и  $j$  равны 1. Таким образом, смысловая цепь может быть представлена следующими формулами:



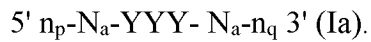
Когда смысловая цепь представлена формулой (Ib),  $N_b$  представляет собой олигонуклеотидную последовательность, содержащую 0-10, 0-7, 0-5, 0-4, 0-2 или 0 модифицированных нуклеотидов. Каждый  $N_a$  независимо может представлять собой олигонуклеотидную последовательность, содержащую 2-20, 2-15 или 2-10 модифицированных нуклеотидов.

Когда смысловая цепь представлена формулой (Ic),  $N_b$  представляет собой олигонуклеотидную последовательность, содержащую 0-10, 0-7, 0-10, 0-7, 0-5, 0-4, 0-2 или 0 модифицированных нуклеотидов. Каждый  $N_a$  может независимо представлять собой олигонуклеотидную последовательность, содержащую 2-20, 2-15 или 2-10 модифицированных нуклеотидов.

Когда смысловая цепь представлена формулой (Id), каждая  $N_b$  представляет собой олигонуклеотидную последовательность, содержащую 0-10, 0-7, 0-5, 0-4, 0-2 или 0 модифицированных нуклеотидов. Предпочтительно  $N_b$  равен 0, 1, 2, 3, 4, 5 или 6. Каждый  $N_a$  может независимо представлять собой олигонуклеотидную последовательность, содержащую 2-20, 2-15 или 2-10 модифицированных нуклеотидов.

Каждый из X, Y и Z может быть одинаковым или отличным друг от друга.

В других вариантах осуществления  $i$  равно 0, а  $j$  равно 0, и смысловая цепь может быть представлена формулой:



Когда смысловая цепь представлена формулой (Ia), каждый  $N_a$  независимо может представлять собой олигонуклеотидную последовательность, содержащую 2-20, 2-15 или 2-10 модифицированных нуклеотидов.

В одном варианте осуществления последовательность антисмысловой цепи РНКи может быть представлена формулой (II):



в которой:

$k$  и  $l$  каждый независимо равен 0 или 1;

$p'$  и  $q'$  каждый независимо равен 0-6;

каждый  $N_a'$  независимо представляет собой олигонуклеотидную последовательность, содержащую 0-25 модифицированных нуклеотидов, причем каждая последовательность содержит по меньшей мере два по-разному модифицированных нуклеотида;

каждый  $N_b'$  независимо представляет собой олигонуклеотидную последовательность, содержащую 0-10 модифицированных нуклеотидов;

каждый  $n_p'$  и  $n_q'$  независимо представляет собой выступающий нуклеотид;

где  $N_b'$  и  $Y'$  не имеют одинаковой модификации; а также

Каждый из  $X'X'X'$ ,  $Y'Y'Y'$  и  $Z'Z'Z'$  независимо представляет один мотив из трех идентичных модификаций трех последовательных нуклеотидов.

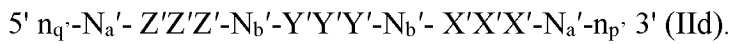
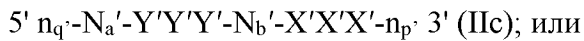
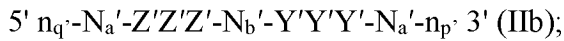
В некоторых вариантах осуществления  $N_a'$  или  $N_b'$  содержит модификации с чередующимся паттерном.

Мотив  $Y'Y'Y'$  встречается в сайте расщепления антисмысловой цепи или рядом с ним. Например, когда дсРНКи агент имеет дуплексную область длиной 17-23 нуклеотида, мотив  $Y'Y'Y'$  может встречаться в положениях 9, 10, 11; 10, 11, 12; 11, 12, 13; 12, 13, 14; или 13, 14, 15 антисмысловой цепи, начиная отсчет с первого нуклеотида с 5'-конца; или, необязательно, отсчет начинается с первого спаренного нуклеотида в области дуплекса с 5'-конца. Предпочтительно мотив  $Y'Y'Y'$  находится в положениях 11, 12, 13.

В некоторых вариантах осуществления мотив  $Y'Y'Y'$  представляет собой мотв, где все нуклеотиды модифицированы 2'-ОМе.

В некоторых вариантах осуществления  $k$  равно 1 и  $l$  равно 0, или  $k$  равно 0 и  $l$  равно 1, или оба  $k$  и  $l$  равны 1.

Таким образом, антисмысловая цепь может быть представлена следующими формулами:

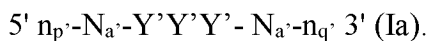


Если антисмысловая цепь представлена формулой (IIb), то  $N_b'$  представляет собой олигонуклеотидную последовательность, содержащую 0-10, 0-7, 0-10, 0-7, 0-5, 0-4, 0-2 или 0 модифицированных нуклеотиды. Каждый  $N_a'$  независимо представляет собой олигонуклеотидную последовательность, содержащую 2-20, 2-15 или 2-10 модифицированных нуклеотидов.

Если антисмысловая цепь представлена формулой (IIc), то  $N_b'$  представляет собой олигонуклеотидную последовательность, содержащую 0-10, 0-7, 0-10, 0-7, 0-5, 0-4, 0-2 или 0 модифицированных нуклеотиды. Каждый  $N_a'$  независимо представляет собой олигонуклеотидную последовательность, содержащую 2-20, 2-15 или 2-10 модифицированных нуклеотидов.

Если антисмысловая цепь представлена формулой (IId), то каждый  $N_b'$  независимо представляет собой олигонуклеотидную последовательность, содержащую 0-10, 0-7, 0-10, 0-7, 0-5, 0-4, 0-2 или 0 модифицированных нуклеотидов. Каждый  $N_a'$  независимо представляет собой олигонуклеотидную последовательность, содержащую 2-20, 2-15 или 2-10 модифицированных нуклеотидов. Предпочтительно  $N_b$  равен 0, 1, 2, 3, 4, 5 или 6.

В других вариантах осуществления  $k$  равно 0 и  $l$  равно 0, и антисмысловая цепь может быть представлена формулой:



Когда антисмысловая цепь представлена формулой (IIa), каждый  $N_a'$  независимо представляет собой олигонуклеотидную последовательность, содержащую 2-20, 2-15 или 2-10 модифицированных нуклеотидов.

Каждый из  $X'$ ,  $Y'$  и  $Z'$  может быть одинаковым или отличным друг от друга.

Каждый нуклеотид смысловой цепи и антисмысловой цепи может быть независимо модифицирован LNA, CRN, UNA, cEt, HNA, CeNA, 2'-метоксиэтилом, 2'-О-метилом, 2'-О-аллилом, 2'-С- аллилом, 2'-гидрокси или 2'-фтором. Например, каждый нуклеотид смысловой цепи и антисмысловой цепи независимо модифицирован 2'-О-метилом или 2'-фтором. В частности, каждый  $X$ ,  $Y$ ,  $Z$ ,  $X'$ ,  $Y'$  и  $Z'$  может представлять собой 2'-О-метил- или 2'-фтор- модификацию.

В некоторых вариантах осуществления смысловая цепь дсРНКи агента может содержать мотив  $Y'Y'Y'$ , встречающийся в положениях 9, 10 и 11 цепи, если дуплексная область составляет 21 нуклеотид, отсчет начинается с первого нуклеотида с 5'-конца, или, необязательно, отсчет может начинаться с первого спаренного нуклеотида в области дуплекса с 5'-конца;  $Y'$  представляет собой модификацию 2'-Ф. Смысловая цепь может дополнительно содержать мотив  $XXX$  или мотивы  $ZZZ$  в качестве модификаций прилегающей области на противоположном конце дуплексной области; и  $XXX$  и  $ZZZ$ ,

каждый независимо, представляет собой модификацию 2'-ОМе или модификацию 2'-F.

В некоторых вариантах осуществления антисмысловая цепь может содержать мотив Y'Y'Y', расположенный в положениях 11, 12, 13 цепи, где отсчет начинается с первого нуклеотида с 5'-конца, или, необязательно, с первого парного нуклеотида в области дуплекса с 5'-конца; и Y' представляет собой 2'-О-метильную модификацию. Антисмысловая цепь может дополнительно содержать мотив X'X'X' или мотивы Z'Z'Z' в качестве модификаций прилежащей области на противоположном конце дуплексной области; X'X'X' и Z'Z'Z', каждый независимо, представляет собой модификацию 2'-ОМе или модификацию 2'-F.

Смысловая цепь, представленная любой из приведенных выше формул (Ia), (Ib), (Ic) и (Id), образует дуплекс с антисмысловой цепью, представленной любой из формул (IIa), (IIb), (IIв) и (IIг) соответственно.

Соответственно, дсРНКи агенты для применения в способах по изобретению могут содержать смысловую цепь и антисмысловую цепь, каждая из которых имеет от 14 до 30 нуклеотидов, и дуплекс иРНК, представленный формулой (III):

Смысловая цепь:  $5' n_p - N_a - (X X X)_i - N_b - Y Y Y - N_b - (Z Z Z)_j - N_a - n_q 3'$

Антисмысловая цепь:  $3' n_p' - N_a' - (X' X' X')_k - N_b' - Y' Y' Y' - N_b' - (Z' Z' Z')_l - N_a' - n_q' 5'$

(III)

где:

каждый из i, j, k и l независимо равен 0 или 1;

каждый из p, p', q и q' независимо равен 0-6;

каждый  $N_a$  и  $N_a'$  независимо представляет собой олигонуклеотидную последовательность, содержащую 0-25 модифицированных нуклеотидов, причем каждая последовательность содержит по меньшей мере два по-разному модифицированных нуклеотида;

каждый  $N_b$  и  $N_b'$  независимо представляет собой олигонуклеотидную последовательность, содержащую 0-10 модифицированных нуклеотидов;

где каждый из  $n_p'$ ,  $n_p$ ,  $n_q'$ , и  $n_q$ , может присутствовать или не присутствовать, и независимо представляет собой выступающий нуклеотид; а также

где каждый из XXX, YYY, ZZZ, X'X'X', Y'Y'Y' и Z'Z'Z', независимо, представляет собой один мотив из трех идентичных модификаций трех последовательных нуклеотидов.

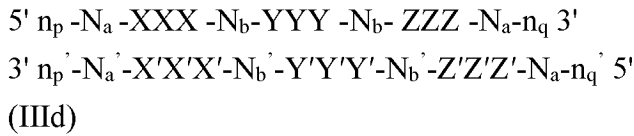
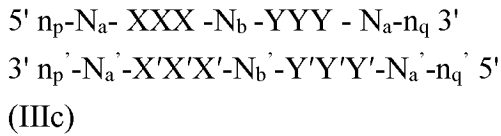
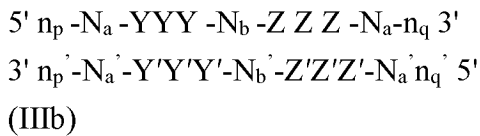
В одном варианте осуществления i равно 0 и j равно 0; или i равно 1 и j равно 0; или i равно 0 и j равно 1; или оба i и j равны 0; или оба i и j равны 1. В другом варианте осуществления k равно 0 и l равно 0; или k равно 1 и l равно 0; k равно 0 и l равно 1; или оба k и l равны 0; или оба k и l равны 1.

Примеры комбинаций смысловой цепи и антисмысловой цепи, образующих дуплекс иРНК, включают следующие формулы:

$5' n_p - N_a - YYY - N_a - n_q 3'$

$3' n_p' - N_a' - Y'Y'Y' - N_a' - n_q' 5'$

(IIIa)



Когда дсРНКи агент представлен формулой (Ша), каждый  $N_a$  независимо представляет собой олигонуклеотидную последовательность, содержащую 2-20, 2-15 или 2-10 модифицированных нуклеотидов.

Когда дсРНКи агент представлен формулой (Шб), каждый  $N_b$  независимо представляет собой олигонуклеотидную последовательность, содержащую 1-10, 1-7, 1-5 или 1-4 модифицированных нуклеотида. Каждый  $N_a$  независимо представляет собой олигонуклеотидную последовательность, содержащую 2-20, 2-15 или 2-10 модифицированных нуклеотидов.

Когда дсРНКи агент представлен формулой (Шс), каждый  $N_b$ ,  $N_b'$  независимо представляет собой олигонуклеотидную последовательность, включающую 0-10, 0-7, 0-10, 0-7, 0-5, 0-4, 0-2 или 0 модифицированных нуклеотидов. Каждый  $N_a$  независимо представляет собой олигонуклеотидную последовательность, содержащую 2-20, 2-15 или 2-10 модифицированных нуклеотидов.

Когда дсРНКи агент представлен формулой (Шд), каждый  $N_b$ ,  $N_b'$  независимо представляет собой олигонуклеотидную последовательность, включающую 0-10, 0-7, 0-10, 0-7, 0-5, 0-4, 0-2 или 0 модифицированных нуклеотидов. Каждый  $N_a$ ,  $N_a'$  независимо представляет собой олигонуклеотидную последовательность, содержащую 2-20, 2-15 или 2-10 модифицированных нуклеотидов. Каждый из  $N_a$ ,  $N_a'$ ,  $N_b$  и  $N_b'$  независимо содержит модификации с чередующимся паттерном.

Каждый из  $X$ ,  $Y$  и  $Z$  в формулах (Ш), (Ша), (Шб), (Шс) и (Шд) может быть одинаковым или отличаться друг от друга.

Когда дсРНКи агент представлен формулой (Ш), (Ша), (Шб), (Шс) и (Шд), по меньшей мере один из нуклеотидов  $Y$  может образовывать пару оснований с одним из нуклеотидов  $Y'$ . Альтернативно, по меньшей мере, два нуклеотида  $Y$  образуют пары оснований с соответствующими нуклеотидами  $Y'$ ; или все три нуклеотида  $Y$  образуют пары оснований с соответствующими нуклеотидами  $Y'$ .

Когда дсРНКи агент представлен формулой (Шб) или (Шд), по меньшей мере один из нуклеотидов  $Z$  может образовывать пару оснований с одним из нуклеотидов  $Z'$ . Альтернативно, по меньшей мере, два нуклеотида  $Z$  образуют пары оснований с соответствующими нуклеотидами  $Z'$ ; или все три нуклеотида  $Z$  образуют пары оснований с соответствующими нуклеотидами  $Z'$ .

Когда дсРНКи агент представлен формулой (Шс) или (Шд), по меньшей мере один из нуклеотидов X может образовывать пару оснований с одним из нуклеотидов X'. Альтернативно, по меньшей мере, два нуклеотида X образуют пары оснований с соответствующими нуклеотидами X', или все три нуклеотида X образуют пары оснований с соответствующими нуклеотидами X'.

В некоторых вариантах осуществления модификация нуклеотида Y отличается от модификации нуклеотида Y', модификация нуклеотида Z отличается от модификации нуклеотида Z' или модификация нуклеотида X отличается от модификации нуклеотида X'.

В некоторых вариантах осуществления, когда дсРНКи агент представлен формулой (Шд), модификации N<sub>a</sub> представляют собой модификации 2'-О-метил или 2'-фтор. В других вариантах осуществления, когда агент РНК-интерференции представлен формулой (Шд), модификации N<sub>a</sub> представляют собой модификации 2'-О-метил или 2'-фтор и n<sub>p</sub>' > 0, и по меньшей мере один n<sub>p</sub>' связан с соседним нуклеотидом через тиофосфатную связь. В других вариантах осуществления, когда агент РНК-интерференции представлен формулой (Шд), модификации N<sub>a</sub> представляют собой модификации 2'-О-метил или 2'-фтор, n<sub>p</sub>' > 0, и по меньшей мере один n<sub>p</sub>' связан с соседним нуклеотидом через фосфоротиоатную связь, а смысловая цепь конъюгирована с одним или более производными GalNAc, присоединенными через двухвалентный или трехвалентный разветвленный линкер (описано ниже). В других вариантах осуществления, когда агент РНК-интерференции представлен формулой (Шд), модификации N<sub>a</sub> представляют собой модификации 2'-О-метил или 2'-фтор, n<sub>p</sub>' > 0, и по меньшей мере один n<sub>p</sub>' связан с соседним нуклеотидом через фосфоротиоатную связь, смысловая цепь содержит по меньшей мере одну фосфоротиоатную связь, и смысловая цепь конъюгирована с одним или более производными GalNAc, присоединенными через двухвалентный или трехвалентный разветвленный линкер.

В некоторых вариантах осуществления, когда дсРНКи агент представлен формулой (Ша), модификации N<sub>a</sub> представляют собой модификации 2'-О-метил или 2'-фтор, n<sub>p</sub>' > 0, и по меньшей мере один n<sub>p</sub>' связан с соседним нуклеотидом через фосфоротиоатную связь, смысловая цепь содержит по меньшей мере одну фосфоротиоатную связь, и смысловая цепь конъюгирована с одним или более производными GalNAc, присоединенными через двухвалентный или трехвалентный разветвленный линкер.

В некоторых вариантах осуществления дсРНКи агент представляет собой мультимер, содержащий по меньшей мере два дуплекса, представленных формулами (Ш), (Ша), (Шб), (Шс) и (Шд), где дуплексы соединены линкером. Линкер может быть расщепляемым или нерасщепляемым. Необязательно, мультимер дополнительно содержит лиганд. Каждый из дуплексов может быть нацелен на один и тот же ген или на два разных гена; или каждый из дуплексов может нацеливаться на один и тот же ген в двух разных сайтах-мишенях.

В некоторых вариантах осуществления дсРНКи агент представляет собой

мультимер, содержащий три, четыре, пять, шесть или более дуплексов, представленных формулами (III), (IIIa), (IIIb), (IIIc) и (III d), где дуплексы связаны линкером. Линкер может быть расщепляемым или нерасщепляемым. Необязательно, мультимер дополнительно содержит лиганд. Каждый из дуплексов может быть нацелен на один и тот же ген или на два разных гена; или каждый из дуплексов может нацеливаться на один и тот же ген в двух разных сайтах-мишенях.

В одном варианте осуществления два дсРНКи агента, представленные по меньшей мере одной из формул (III), (IIIa), (IIIb), (IIIc) и (III d), связаны друг с другом на 5'-конце, и на одном или обоих из 3'-концов и необязательно конъюгированы с лигандом. Каждый из агентов может быть нацелен на один и тот же ген или на два разных гена; или каждый из агентов может быть нацелен на один и тот же ген в двух разных сайтах-мишенях.

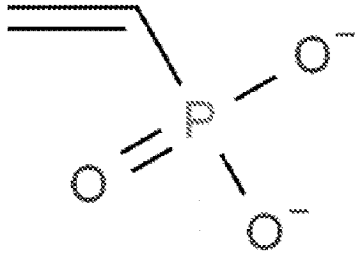
В некоторых вариантах осуществления агент РНК-интерференции по изобретению может содержать небольшое количество нуклеотидов, содержащих модификацию 2'-фтор, например, 10 или менее нуклеотидов с модификацией 2'-фтор. Например, РНКи агент может содержать 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1 или 0 нуклеотидов с модификацией 2'-фтор. В конкретном варианте осуществления агент РНК-интерференции по изобретению содержит 10 нуклеотидов с модификацией 2'-фтор, например, 4 нуклеотида с модификацией 2'-фтор в смысловой цепи и 6 нуклеотидов с модификацией 2'-фтор в антисмысловой цепи. В другом конкретном варианте осуществления агент РНК-интерференции по изобретению содержит 6 нуклеотидов с модификацией 2'-фтор, например, 4 нуклеотида с модификацией 2'-фтор в смысловой цепи и 2 нуклеотида с модификацией 2'-фтор в антисмысловой цепи.

В других вариантах осуществления агент РНК-интерференции по изобретению может содержать очень небольшое количество нуклеотидов, содержащих модификацию 2'-фтор, например, 2 или меньше нуклеотидов, содержащих модификацию 2'-фтор. Например, РНКи агент может содержать 2, 1 из 0 нуклеотидов с модификацией 2'-фтор. В конкретном варианте осуществления РНКи агент может содержать 2 нуклеотида с модификацией 2'-фтор, например, 0 нуклеотидов с модификацией 2'-фтор в смысловой цепи и 2 нуклеотида с модификацией 2'-фтор в антисмысловой цепи.

Различные публикации описывают мультимерные иРНК, которые можно использовать в способах по изобретению. Такие публикации включают WO 2007/091269, патент США № 7858769, WO 2010/141511, WO 2007/117686, WO 2009/014887 и WO 2011/031520, полное содержание каждого из которых включено в настоящее описание посредством ссылки.

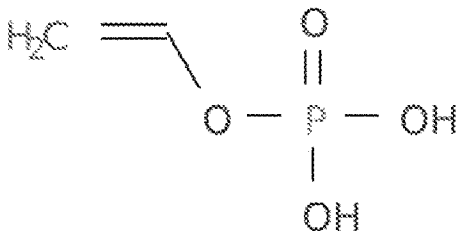
В некоторых вариантах осуществления композиции и способы согласно настоящему изобретению включают винилфосфонатную (VP) модификацию агента РНК-интерференции, как описано в настоящем изобретении. В типичных вариантах осуществления винилфосфонат согласно настоящему изобретению имеет следующую структуру:





Винилфосфонат по настоящему изобретению может быть присоединен либо к антисмысловой, либо к смысловой цепи дсРНК согласно настоящему изобретению. В некоторых предпочтительных вариантах осуществления винилфосфонат по настоящему изобретению присоединен к антисмысловой цепи дсРНК, необязательно на 5'-конце антисмысловой цепи дсРНК.

Модификации винилфосфата также предусмотрены для композиций и способов согласно настоящему описанию. Типичная структура винилфосфата такова:



Как более подробно описано ниже, иРНК, которая включает конъюгации одной или нескольких углеводных частей с иРНК, способна оптимизировать одно или более свойств иРНК. Во многих случаях углеводный фрагмент может быть присоединен к модифицированной субъединице иРНК. Например, рибозный сахар одной или нескольких рибонуклеотидных субъединиц иРНК может быть заменен другим фрагментом, например, неуглеводным носителем (предпочтительно циклическим), к которому присоединен углеводный лиганд. Субъединица рибонуклеотида, в которой таким образом заменен рибозный сахар субъединицы, называется здесь субъединицей с модификацией замены рибозы (RRMS). Циклический носитель может представлять собой карбоциклическую кольцевую систему, т. е. в которой все атомы кольца представляют собой атомы углерода, или гетероциклическую кольцевую систему, т. е. в которой один или более кольцевых атомов могут представлять собой гетероатом, например, азот, кислород, серу. Циклический носитель может представлять собой моноциклическую систему колец или может содержать два или более колец, например сплавленные кольца. Циклический носитель может представлять собой полностью насыщенную кольцевую систему или может содержать одну или более двойных связей.

Лиганд может быть присоединен к полинуклеотиду через носитель. Носители включают (i) по меньшей мере одну «точку крепления к остову», предпочтительно две «точки крепления к остову» и (ii) по меньшей мере одну «точку крепления».

Используемый здесь термин «точка крепления к остову» относится к функциональной группе, например гидроксильной группе или, в общем случае, к связи, доступной и подходящей для включения носителя в основную цепь, например, фосфатную или модифицированную фосфатную, например серосодержащую, основную цепь рибонуклеиновой кислоты. «Точка присоединения» (TAP, tethering attachment point) в некоторых вариантах осуществления относится к составляющему кольцевому атому циклического носителя, например, атому углерода или гетероатому (отличному от атома, который обеспечивает «точку крепления к остову»), который присоединяет выбранный фрагмент. Фрагмент может быть, например, углеводом, например моносахаридом, дисахаридом, трисахаридом, тетрасахаридом, олигосахаридом или полисахаридом. Необязательно выбранный фрагмент соединен промежуточной связью с циклическим носителем. Таким образом, циклический носитель часто будет включать функциональную группу, например, аминогруппу, или, как правило, обеспечивать связь, подходящую для включения или присоединения другого химического соединения, например лиганда, к кольцу носителя.

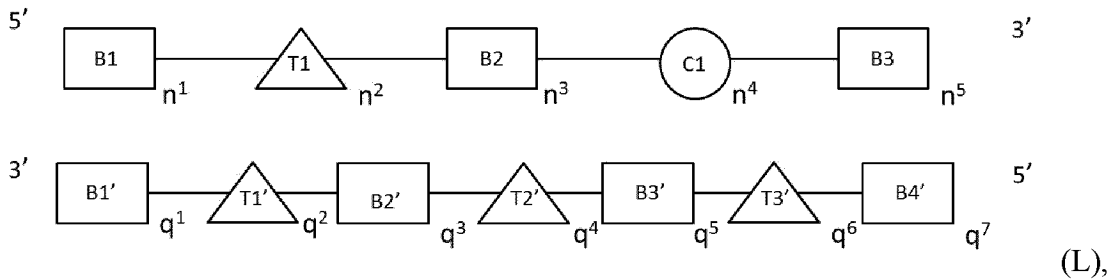
иРНК может быть конъюгирована с лигандом через носитель, где носитель может представлять собой циклическую группу или ациклическую группу; где предпочтительно циклическая группа выбрана из пирролидинила, пиразолинила, пиразолидинила, имидазолинила, имидазолидинила, пиперидинила, пиперазинила, [1,3]диоксолана, оксазолидинила, изоксазолидинила, морфолинила, тиазолидинила, изотиазолидинила, хиноксалинила, пиридазинонила, тетрагидрофурила и декалина; предпочтительно ациклическая группа представляет собой цепь серинола или цепь диэтанолamina.

#### *i. Термически дестабилизирующие модификации*

В некоторых вариантах осуществления молекула дсРНК может быть оптимизирована для РНК-интерференции путем включения термически дестабилизирующих модификаций в исходную область антисмысловой цепи (т.е. в положениях 2-9 5'-конца антисмысловой цепи) для уменьшения или ингибирования сайленсинга нецелевых генов. Было обнаружено, что дсРНК с антисмысловой цепью, содержащей по меньшей мере одну термически дестабилизирующую модификацию дуплекса в пределах первых 9 нуклеотидных позиций, считая с 5'-конца антисмысловой цепи, обладают сниженной активностью сайленсинга нецелевого гена. Соответственно, в некоторых вариантах осуществления антисмысловая цепь содержит по меньшей мере одну (например, одну, две, три, четыре, пять или более) термически дестабилизирующую модификацию дуплекса в пределах первых 9 нуклеотидных положений 5'-области антисмысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления одна или несколько термодестабилизирующих модификаций дуплекса расположены в положениях 2-9 или предпочтительно в положениях 4-8 от 5'-конца антисмысловой цепи. В некоторых дополнительных вариантах осуществления термически дестабилизирующая(ие) модификация(и) дуплекса находится(ются) в положении 6, 7 или 8 от 5'-конца антисмысловой цепи. В еще некоторых дополнительных вариантах осуществления

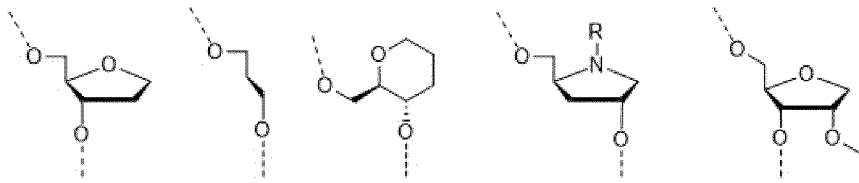
термически дестабилизирующая модификация дуплекса расположена в положении 7 от 5'-конца антисмысловой цепи. Термин «термически дестабилизирующая(ие) модификация(и)» включает модификацию(и), которая приводит к получению дсРНК с более низкой общей температурой плавления ( $T_m$ ) (предпочтительно  $T_m$ , которая на один, два, три или четыре градуса ниже, чем  $T_m$  дсРНК) без такой модификации (модификаций)). В некоторых вариантах осуществления термически дестабилизирующая модификация дуплекса расположена в положении 2, 3, 4, 5 или 9 от 5'-конца антисмысловой цепи.

иРНК агент содержит смысловую цепь и антисмысловую цепь, каждая из которых имеет от 14 до 40 нуклеотидов. иРНК агент может быть представлен формулой (L):



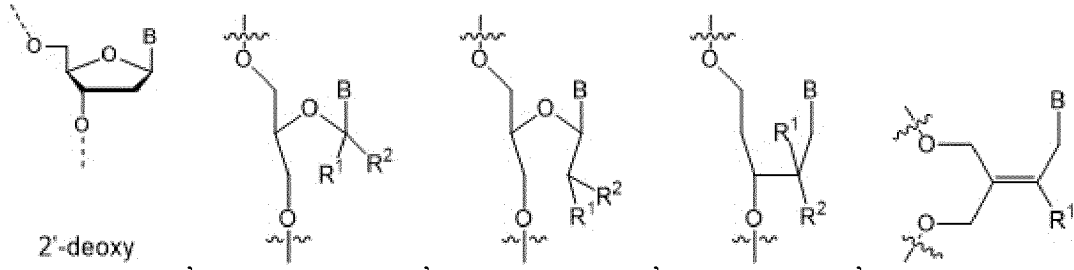
В формуле (L) каждый B1, B2, B3, B1', B2', B3' и B4' независимо представляет собой нуклеотид, содержащий модификацию, выбранную из группы, состоящей из 2'-О-алкила, 2'-замещенного алкокси, 2'-замещенного алкила, 2'-галогена, ENA и BNA/LNA. В одном варианте осуществления каждый из B1, B2, B3, B1', B2', B3' и B4' содержит модификации 2'-ОМе. В одном варианте осуществления каждый из B1, B2, B3, B1', B2', B3' и B4' содержит модификации 2'-ОМе или 2'-F. В одном варианте осуществления по меньшей мере один из B1, B2, B3, B1', B2', B3' и B4' содержит модификацию 2'-O-N-метилацетамидо (2'-O-NMA).

C1 представляет собой термически дестабилизирующий нуклеотид, расположенный в месте, противоположном основе-затравке (seed region) антисмысловой цепи (т.е. в положениях 2-8 5'-конца антисмысловой цепи). Например, C1 находится в положении смысловой цепи, которое спаривается с нуклеотидом в положениях 2-8 от 5'-конца антисмысловой цепи. В одном примере C1 находится в положении 15 от 5'-конца смысловой цепи. Нуклеотид C1 имеет термодестабилизирующую модификацию, которая может включать абазическую модификацию; несоответствие противоположному нуклеотиду в дуплексе; и модификацию сахара, такую как 2'-дезоксимодификация или ациклический нуклеотид, например, разблокированные нуклеиновые кислоты (UNA) или глицериновую нуклеиновую кислоту (GNA). В одном варианте осуществления C1 имеет термически дестабилизирующую модификацию, выбранную из группы, состоящей из: i) несоответствия противоположному нуклеотиду в антисмысловой цепи; ii) абазической модификации, выбранную из группы, состоящей из:



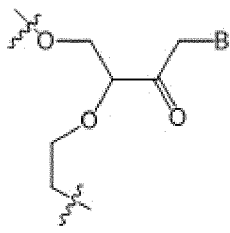
; и iii) модификацию

сахара, выбранную из группы, состоящей из:

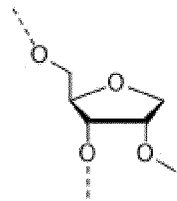


2'-deoxy

, и



где В представляет собой модифицированное или немодифицированное азотистое основание,  $R^1$  и  $R^2$  независимо представляют собой H, галоген,  $OR_3$  или алкил; и  $R_3$  представляет собой H, алкил, циклоалкил, арил, аралкил, гетероарил или сахар. В одном варианте осуществления термически дестабилизирующая модификация в С1 представляет собой несоответствие, выбранное из группы, состоящей из of G:G, G:A, G:U, G:T, A:A, A:C, C:C, C:U, C:T, U:U, T:T, и U:T; и где, необязательно, по меньшей мере одно азотистое основание в паре несоответствия представляет собой 2'-дезоксинуклеотидное основание. В одном примере термически дестабилизирующей модификацией в С1



является GNA или

Каждый из T1, T1', T2' и T3' независимо представляет собой нуклеотид, содержащий модификацию, обеспечивающую стерический объем нуклеотида, который меньше или равен стерическому объему модификации 2'-ОМе. Стерический объем относится к сумме стерических эффектов модификации. Способы определения стерических эффектов модификации нуклеотида известны специалистам в данной области техники. Модификация может находиться в 2'-положении рибозного сахара нуклеотида или быть модификацией нерибозного нуклеотида, ациклического нуклеотида или скелета нуклеотида, который аналогичен или эквивалентен 2'-положению рибозного сахара и обеспечивает нуклеотиду стерический объем, который меньше или равен стерическому

объему модификации 2'-ОМе. Например, каждый из T1, T1', T2' и T3' независимо выбран из ДНК, РНК, LNA, 2'-F и 2'-F-5'-метила. В одном варианте осуществления T1 представляет собой ДНК. В одном варианте осуществления T1' представляет собой ДНК, РНК или LNA. В одном варианте осуществления T2' представляет собой ДНК или РНК. В одном варианте осуществления T3' представляет собой ДНК или РНК.

$n^1$ ,  $n^3$ , и  $q^1$  независимо имеют длину от 4 до 15 нуклеотидов.

$n^5$ ,  $q^3$ , и  $q^7$  независимо имеют длину 1-6 нуклеотидов.

$n^4$ ,  $q^2$ , и  $q^6$  независимо имеют длину 1-3 нуклеотида; альтернативно,  $n^4$  равен 0.

$q^5$  независимо имеет длину 0-10 нуклеотидов.

$n^2$  и  $q^4$  независимо имеют длину 0-3 нуклеотида(ов).

Альтернативно,  $n^4$  имеет длину 0-3 нуклеотида(ов).

В одном варианте осуществления  $n^4$  может быть равен 0. В одном примере  $n^4$  равен 0, а  $q^2$  и  $q^6$  равны 1. В другом примере  $n^4$  равен 0, а  $q^2$  и  $q^6$  равны 1, с двумя модификациями тиофосфатной межнуклеотидной связи в положениях 1-5 смысловой цепи (считая с 5'-конца смысловой цепи), две модификации тиофосфатной межнуклеотидной связи в положениях 1 и 2 и две модификации тиофосфатной межнуклеотидной связи в положениях 18-23 антисмысловой цепи (считая с 5'-конца антисмысловой цепи).

В одном варианте осуществления каждый из  $n^4$ ,  $q^2$  и  $q^6$  равны 1.

В одном варианте осуществления каждый из  $n^2$ ,  $n^4$ ,  $q^2$ ,  $q^4$ , и  $q^6$  равны 1.

В одном варианте осуществления C1 находится в положении 14-17 5'-конца смысловой цепи, когда длина смысловой цепи составляет 19-22 нуклеотида, а  $n^4$  равно 1. В одном варианте осуществления C1 находится в положении 15 от 5'-конца смысловой цепи.

В одном варианте осуществления T3' начинается в положении 2 от 5'-конца антисмысловой цепи. В одном примере T3' находится в положении 2 от 5'-конца антисмысловой цепи, а  $q^6$  равен 1.

В одном варианте осуществления T1' начинается в положении 14 от 5'-конца антисмысловой цепи. В одном примере T1' находится в положении 14 от 5'-конца антисмысловой цепи, а  $q^6$  равно 1.

В типичном варианте осуществления T3' начинается с положения 2 с 5'-конца антисмысловой цепи, а T1' начинается с положения 14 с 5'-конца антисмысловой цепи. В одном примере T3' начинается с положения 2 с 5'-конца антисмысловой цепи, а  $q^6$  равно 1, а T1' начинается с положения 14 с 5'-конца антисмысловой цепи, а  $q^2$  равно 1.

В одном варианте осуществления T1' и T3' разделены длиной 11 нуклеотидов (т.е. не считая нуклеотидов T1' и T3').

В одном варианте осуществления T1' находится в положении 14 от 5'-конца антисмысловой цепи. В одном примере T1' находится в положении 14 от 5'-конца антисмысловой цепи,  $q^2$  равно 1, и имеет модификацию в положении 2' или положениях в нерибозной, ациклической или основной цепи, которые обеспечивают меньший

стерический объем чем 2'-ОМе рибоза.

В одном варианте осуществления ТЗ' находится в положении 2 от 5'-конца антисмысловой цепи. В одном примере ТЗ' находится в положении 2 от 5'-конца антисмысловой цепи,  $q^6$  равно 1, и имеет модификацию в позиции 2' или в позициях в нерибозной, ациклической или основной цепи, которые обеспечивают стерический объем менее чем 2'-ОМе рибоза или равный таковому.

В одном варианте осуществления Т1 находится в сайте расщепления смысловой цепи. В одном примере Т1 находится в положении 11 от 5'-конца смысловой цепи, где длина смысловой цепи составляет 19-22 нуклеотида, а  $n^2$  равно 1. В типичном варианте осуществления Т1 находится в сайте расщепления смысловой цепи в положении 11 от 5'-конца смысловой цепи, где смысловая цепь имеет длину 19-22 нуклеотида и  $n^2$  равно 1.

В одном варианте осуществления Т2' начинается в положении 6 от 5'-конца антисмысловой цепи. В одном примере Т2' находится в положениях 6-10 от 5'-конца антисмысловой цепи, а  $q^4$  равен 1.

В типичном варианте осуществления Т1 находится в сайте расщепления смысловой цепи, например, в положении 11 от 5'-конца смысловой цепи, где длина смысловой цепи составляет 19-22 нуклеотида, а  $n^2$  равно 1; Т1' находится в положении 14 от 5'-конца антисмысловой цепи, а  $q^2$  равно 1, а модификация Т1' находится во 2'-позиции рибозного сахара или в положениях в нерибозной, ациклической или основной цепи, которые обеспечивают меньший стерический объем чем 2'-ОМе рибоза; Т2' находится в положениях 6-10 от 5'-конца антисмысловой цепи, а  $q^4$  равен 1; и ТЗ' находится в положении 2 от 5'-конца антисмысловой цепи, а  $q^6$  равно 1, а модификация ТЗ' находится во 2'-позиции или в позициях в нерибозной, ациклической или основной цепи, которые обеспечивают стерический объем менее чем 2'-ОМе рибоза или равный таковому.

В одном варианте осуществления Т2' начинается в положении 8 от 5'-конца антисмысловой цепи. В одном примере Т2' начинается в положении 8 от 5'-конца антисмысловой цепи, а  $q^4$  равен 2.

В одном варианте осуществления Т2' начинается в положении 9 от 5'-конца антисмысловой цепи. В одном примере Т2' находится в положении 9 от 5'-конца антисмысловой цепи, а  $q^4$  равен 1.

В одном варианте осуществления В1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F,  $q^1$  представляет собой 9, Т1' представляет собой 2'-F,  $q^2$  представляет собой 1, В2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F,  $q^3$  представляет собой 4, Т2' представляет собой 2'-F,  $q^4$  представляет собой 1, ВЗ' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F,  $q^5$  представляет собой 6, ТЗ' представляет собой 2'-F,  $q^6$  представляет собой 1, В4' представляет собой 2'-ОМе, and  $q^7$  равно 1; с двумя модификациями фосфоротиоатной межнуклеотидной связи в пределах положений 1-5 смысловой цепи (считая от 5'-конца смысловой цепи), двумя модификациями фосфоротиоатной межнуклеотидной связи в положениях 1 и 2 и двумя модификациями фосфоротиоатной межнуклеотидной связи в положениях 18- 23 антисмысловой цепи (считая от 5'-конца антисмысловой цепи).







представляет собой 2'-ОМе,  $n^5$  представляет собой 3, В1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F,  $q^1$  представляет собой 9, Т1' представляет собой 2'-F,  $q^2$  представляет собой 1, В2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F,  $q^3$  представляет собой 5, Т2' представляет собой 2'-F,  $q^4$  представляет собой 1, В3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F,  $q^5$  представляет собой 5, Т3' представляет собой 2'-F,  $q^6$  представляет собой 1, В4' представляет собой 2'-ОМе, и  $q^7$  равно 1; необязательно с по меньшей мере 2 дополнительными ТТ на 3'-конце антисмысловой цепи.

В одном варианте осуществления В1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F,  $n^1$  представляет собой 8, Т1 представляет собой 2'F,  $n^2$  представляет собой 3, В2 представляет собой 2'-ОМе,  $n^3$  представляет собой 7,  $n^4$  представляет собой 0, В3 представляет собой 2'-ОМе,  $n^5$  представляет собой 3, В1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F,  $q^1$  представляет собой 9, Т1' представляет собой 2'-F,  $q^2$  представляет собой 1, В2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F,  $q^3$  представляет собой 5, Т2' представляет собой 2'-F,  $q^4$  представляет собой 1, В3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F,  $q^5$  представляет собой 5, Т3' представляет собой 2'-F,  $q^6$  представляет собой 1, В4' представляет собой 2'-ОМе, и  $q^7$  равно 1; необязательно с по меньшей мере 2 дополнительными ТТ на 3'-конце антисмысловой цепи; с двумя модификациями фосфоротиоатной межнуклеотидной связи в положениях 1-5 смысловой цепи (считая от 5'-конца смысловой цепи), и двумя модификациями фосфоротиоатной межнуклеотидной связи в положениях 1 и 2 и двумя модификациями фосфоротиоатной межнуклеотидной связи в пределах положений 18- 23 антисмысловой цепи (считая от 5'-конца антисмысловой цепи).

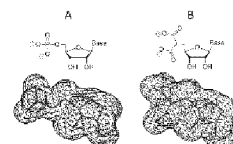
В одном варианте осуществления В1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F,  $n^1$  представляет собой 8, Т1 представляет собой 2'F,  $n^2$  представляет собой 3, В2 представляет собой 2'-ОМе,  $n^3$  представляет собой 7,  $n^4$  представляет собой 0, В3 представляет собой 2'-ОМе,  $n^5$  представляет собой 3, В1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F,  $q^1$  представляет собой 9, Т1' представляет собой 2'-F,  $q^2$  представляет собой 1, В2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F,  $q^3$  представляет собой 4,  $q^4$  представляет собой 0, В3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F,  $q^5$  представляет собой 7, Т3' представляет собой 2'-F,  $q^6$  представляет собой 1, В4' представляет собой 2'-ОМе, и  $q^7$  равно 1.

В одном варианте осуществления В1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F,  $n^1$  представляет собой 8, Т1 представляет собой 2'F,  $n^2$  представляет собой 3, В2 представляет собой 2'-ОМе,  $n^3$  представляет собой 7,  $n^4$  представляет собой 0, В3 представляет собой 2'-ОМе,  $n^5$  представляет собой 3, В1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F,  $q^1$  представляет собой 9, Т1' представляет собой 2'-F,  $q^2$  представляет собой 1, В2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F,  $q^3$  представляет собой 4,  $q^4$  представляет собой 0, В3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F,  $q^5$  представляет собой 7, Т3' представляет собой 2'-F,  $q^6$  представляет собой 1, В4' представляет собой 2'-ОМе, и  $q^7$  равно 1; с двумя модификациями фосфоротиоатных межнуклеотидных связей в положениях 1-5 смысловой цепи (считая с 5'-конца) и двумя модификациями фосфоротиоатных межнуклеотидных связей в положениях 1 и 2 и двумя модификациями фосфоротиоатных межнуклеотидных



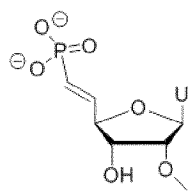
смысловой цепи (считая от 5'-конца смысловой цепи), и двумя модификациями фосфоротиоатной межнуклеотидной связи в положениях 1 и 2 и двумя модификациями фосфоротиоатной межнуклеотидной связи в пределах положений 18- 23 антисмысловой цепи (считая от 5'-конца антисмысловой цепи).

Агент РНК-интерференции может содержать фосфорсодержащую группу на 5'-конце смысловой или антисмысловой цепи. 5'-концевая фосфорсодержащая группа может быть 5'-концевой фосфатной (5'-P), 5'-концевой фосфоротиоатной (5'-PS), 5'-концевой фосфородитиоатной (5'- PS<sub>2</sub>), 5'-концевой винилфосфонатной (5'-VP), 5'-концевой

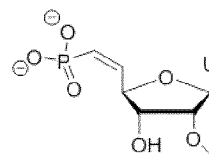


метилфосфонатной (MePhos) или 5'-дезоксид-5'-С-малонильной (

). Когда 5'-концевая фосфорсодержащая группа представляет собой 5'-концевой винилфосфонат (5'-VP), 5'- VP может быть изомером 5'-E-VP (т. е. транс-винилфосфатом,



), изомером 5'-Z-VP (т.е. цис-винилфосфатом,



) или смесью

таковых.

В одном варианте осуществления агент РНК-интерференции содержит фосфорсодержащую группу на 5'-конце смысловой цепи. В одном варианте осуществления агент РНК-интерференции содержит фосфорсодержащую группу на 5'-конце антисмысловой цепи.

В одном варианте осуществления агент РНК-интерференции содержит 5'-P. В одном варианте осуществления агент РНК-интерференции содержит 5'-P в антисмысловой цепи.

В одном варианте осуществления агент РНК-интерференции содержит 5'-PS. В одном варианте осуществления агент РНК-интерференции содержит 5'-PS в антисмысловой цепи.

В одном варианте осуществления агент РНК-интерференции содержит 5'-VP. В одном варианте осуществления агент РНК-интерференции содержит 5'-VP в антисмысловой цепи. В одном варианте осуществления агент РНК-интерференции содержит 5'-E-VP в антисмысловой цепи. В одном варианте осуществления агент РНК-интерференции содержит 5'-Z-VP в антисмысловой цепи.

В одном варианте осуществления агент РНК-интерференции содержит 5'- PS<sub>2</sub>. В одном варианте осуществления агент РНК-интерференции содержит 5'- PS<sub>2</sub> в антисмысловой цепи.

В одном варианте осуществления агент РНК-интерференции содержит 5'- PS<sub>2</sub>. В одном варианте осуществления агент РНК-интерференции содержит 5'-дезоксид-5'-С-





представляет собой 2'-ОМе или 2'-F,  $q^3$  представляет собой 4, T2' представляет собой 2'-F,  $q^4$  представляет собой 2, B3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F,  $q^5$  представляет собой 5, T3' представляет собой 2'-F,  $q^6$  представляет собой 1, B4' представляет собой 2'-ОМе, и  $q^7$  равно 1; с двумя модификациями тиофосфатной межнуклеотидной связи в положениях 1-5 смысловой цепи (считая от 5'-конца смысловой цепи), а также двумя модификациями тиофосфатной межнуклеотидной связи в положениях 1 и 2 и двумя модификациями тиофосфатной межнуклеотидной связи в положениях 18- 23 антисмысловой цепи (считая от 5'-конца антисмысловой цепи). РНКи агент также содержит 5'-VP. 5'-VP может представлять собой 5'-E-VP, 5'-Z-VP или комбинацию таковых.

В одном варианте осуществления B1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F,  $n^1$  представляет собой 8, T1 представляет собой 2'F,  $n^2$  представляет собой 3, B2 представляет собой 2'-ОМе,  $n^3$  представляет собой 7,  $n^4$  представляет собой 0, B3 представляет собой 2'-ОМе,  $n^5$  представляет собой 3, B1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F,  $q^1$  представляет собой 9, T1' представляет собой 2'-F,  $q^2$  представляет собой 1, B2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F,  $q^3$  представляет собой 4, T2' представляет собой 2'-F,  $q^4$  представляет собой 2, B3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F,  $q^5$  представляет собой 5, T3' представляет собой 2'-F,  $q^6$  представляет собой 1, B4' представляет собой 2'-ОМе, и  $q^7$  равно 1; с двумя модификациями тиофосфатной межнуклеотидной связи в положениях 1-5 смысловой цепи (считая от 5'-конца смысловой цепи), а также двумя модификациями тиофосфатной межнуклеотидной связи в положениях 1 и 2 и двумя модификациями тиофосфатной межнуклеотидной связи в положениях 18- 23 антисмысловой цепи (считая от 5'-конца антисмысловой цепи). РНКи агент также содержит 5'-PS<sub>2</sub>.

В одном варианте осуществления B1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F,  $n^1$  представляет собой 8, T1 представляет собой 2'F,  $n^2$  представляет собой 3, B2 представляет собой 2'-ОМе,  $n^3$  представляет собой 7,  $n^4$  представляет собой 0, B3 представляет собой 2'-ОМе,  $n^5$  представляет собой 3, B1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F,  $q^1$  представляет собой 9, T1' представляет собой 2'-F,  $q^2$  представляет собой 1, B2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F,  $q^3$  представляет собой 4, T2' представляет собой 2'-F,  $q^4$  представляет собой 2, B3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F,  $q^5$  представляет собой 5, T3' представляет собой 2'-F,  $q^6$  представляет собой 1, B4' представляет собой 2'-ОМе, и  $q^7$  равно 1; с двумя модификациями тиофосфатной межнуклеотидной связи в положениях 1-5 смысловой цепи (считая от 5'-конца смысловой цепи), а также двумя модификациями тиофосфатной межнуклеотидной связи в положениях 1 и 2 и двумя модификациями тиофосфатной межнуклеотидной связи в положениях 18- 23 антисмысловой цепи (считая от 5'-конца антисмысловой цепи). РНКи агент также содержит 5'-дезоксидезокси-5'-C-малонил.

В одном варианте осуществления B1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F,  $n^1$  представляет собой 8, T1 представляет собой 2'F,  $n^2$  представляет собой 3, B2







межнуклеотидных связей в положениях 1 и 2 и двумя модификациями фосфоротиоатных межнуклеотидных связей в положениях 18-23 антисмысловой цепи цепь (считая с 5'-конца). РНКи агент также содержит 5'-VP. 5'-VP может представлять собой 5'-E-VP, 5'-Z-VP или комбинацию таких.

В одном варианте осуществления В1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n<sup>1</sup> представляет собой 8, Т1 представляет собой 2'F, n<sup>2</sup> представляет собой 3, В2 представляет собой 2'-ОМе, n<sup>3</sup> представляет собой 7, n<sup>4</sup> представляет собой 0, В3 представляет собой 2'-ОМе, n<sup>5</sup> представляет собой 3, В1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>1</sup> представляет собой 9, Т1' представляет собой 2'-F, q<sup>2</sup> представляет собой 1, В2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>3</sup> представляет собой 4, q<sup>4</sup> представляет собой 0, В3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>5</sup> представляет собой 7, Т3' представляет собой 2'-F, q<sup>6</sup> представляет собой 1, В4' представляет собой 2'-ОМе, и q<sup>7</sup> представляет собой 1; с двумя модификациями фосфоротиоатных межнуклеотидных связей в положениях 1-5 смысловой цепи (считая с 5'-конца) и двумя модификациями фосфоротиоатных межнуклеотидных связей в положениях 1 и 2 и двумя модификациями фосфоротиоатных межнуклеотидных связей в положениях 18-23 антисмысловой цепи цепь (считая с 5'-конца). РНКи агент также содержит 5'-PS<sub>2</sub>.

В одном варианте осуществления В1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n<sup>1</sup> представляет собой 8, Т1 представляет собой 2'F, n<sup>2</sup> представляет собой 3, В2 представляет собой 2'-ОМе, n<sup>3</sup> представляет собой 7, n<sup>4</sup> представляет собой 0, В3 представляет собой 2'-ОМе, n<sup>5</sup> представляет собой 3, В1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>1</sup> представляет собой 9, Т1' представляет собой 2'-F, q<sup>2</sup> представляет собой 1, В2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>3</sup> представляет собой 4, q<sup>4</sup> представляет собой 0, В3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>5</sup> представляет собой 7, Т3' представляет собой 2'-F, q<sup>6</sup> представляет собой 1, В4' представляет собой 2'-ОМе, и q<sup>7</sup> представляет собой 1; с двумя модификациями фосфоротиоатных межнуклеотидных связей в положениях 1-5 смысловой цепи (считая с 5'-конца) и двумя модификациями фосфоротиоатных межнуклеотидных связей в положениях 1 и 2 и двумя модификациями фосфоротиоатных межнуклеотидных связей в положениях 18-23 антисмысловой цепи цепь (считая с 5'-конца). РНКи агент также содержит 5'-дезоксидезокси-5'-С-малонил.

В одном варианте осуществления В1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n<sup>1</sup> представляет собой 8, Т1 представляет собой 2'F, n<sup>2</sup> представляет собой 3, В2 представляет собой 2'-ОМе, n<sup>3</sup> представляет собой 7, n<sup>4</sup> представляет собой 0, В3 представляет собой 2'-ОМе, n<sup>5</sup> представляет собой 3, В1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>1</sup> представляет собой 9, Т1' представляет собой 2'-F, q<sup>2</sup> представляет собой 1, В2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>3</sup> представляет собой 4, Т2' представляет собой 2'-F, q<sup>4</sup> представляет собой 2, В3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>5</sup> представляет собой 5, Т3' представляет собой 2'-F, q<sup>6</sup> представляет собой 1, В4' представляет собой 2'-F, и q<sup>7</sup> равно 1. Агент РНК-интерференции также содержит 5'-P.

В одном варианте осуществления В1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n<sup>1</sup>



2'-F,  $q^1$  представляет собой 9, T1' представляет собой 2'-F,  $q^2$  представляет собой 1, B2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F,  $q^3$  представляет собой 4, T2' представляет собой 2'-F,  $q^4$  представляет собой 2, B3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F,  $q^5$  представляет собой 5, T3' представляет собой 2'-F,  $q^6$  представляет собой 1, B4' представляет собой 2'-F, и  $q^7$  равно 1; с двумя модификациями тиофосфатной межнуклеотидной связи в положениях 1-5 смысловой цепи (считая от 5'-конца смысловой цепи), а также двумя модификациями тиофосфатной межнуклеотидной связи в положениях 1 и 2 и двумя модификациями тиофосфатной межнуклеотидной связи в положениях 18- 23 антисмысловой цепи (считая от 5'-конца антисмысловой цепи). РНКи агент также содержит 5'-P.

В одном варианте осуществления B1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F,  $n^1$  представляет собой 8, T1 представляет собой 2'F,  $n^2$  представляет собой 3, B2 представляет собой 2'-ОМе,  $n^3$  представляет собой 7,  $n^4$  представляет собой 0, B3 представляет собой 2'-ОМе,  $n^5$  представляет собой 3, B1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F,  $q^1$  представляет собой 9, T1' представляет собой 2'-F,  $q^2$  представляет собой 1, B2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F,  $q^3$  представляет собой 4, T2' представляет собой 2'-F,  $q^4$  представляет собой 2, B3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F,  $q^5$  представляет собой 5, T3' представляет собой 2'-F,  $q^6$  представляет собой 1, B4' представляет собой 2'-F, и  $q^7$  равно 1; с двумя модификациями тиофосфатной межнуклеотидной связи в положениях 1-5 смысловой цепи (считая от 5'-конца смысловой цепи), а также двумя модификациями тиофосфатной межнуклеотидной связи в положениях 1 и 2 и двумя модификациями тиофосфатной межнуклеотидной связи в положениях 18- 23 антисмысловой цепи (считая от 5'-конца антисмысловой цепи). РНКи агент также содержит 5'-PS.

В одном варианте осуществления B1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F,  $n^1$  представляет собой 8, T1 представляет собой 2'F,  $n^2$  представляет собой 3, B2 представляет собой 2'-ОМе,  $n^3$  представляет собой 7,  $n^4$  представляет собой 0, B3 представляет собой 2'-ОМе,  $n^5$  представляет собой 3, B1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F,  $q^1$  представляет собой 9, T1' представляет собой 2'-F,  $q^2$  представляет собой 1, B2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F,  $q^3$  представляет собой 4, T2' представляет собой 2'-F,  $q^4$  представляет собой 2, B3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F,  $q^5$  представляет собой 5, T3' представляет собой 2'-F,  $q^6$  представляет собой 1, B4' представляет собой 2'-F, и  $q^7$  равно 1; с двумя модификациями тиофосфатной межнуклеотидной связи в положениях 1-5 смысловой цепи (считая от 5'-конца смысловой цепи), а также двумя модификациями тиофосфатной межнуклеотидной связи в положениях 1 и 2 и двумя модификациями тиофосфатной межнуклеотидной связи в положениях 18- 23 антисмысловой цепи (считая от 5'-конца антисмысловой цепи). РНКи агент также содержит 5'-VP. 5'-VP может представлять собой 5'-E-VP, 5'-Z-VP или комбинацию таковых.

В одном варианте осуществления B1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F,  $n^1$

представляет собой 8, T1 представляет собой 2'F, n2 представляет собой 3, B2 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n<sup>1</sup> представляет собой 8, T1 представляет собой 2'F, n<sup>2</sup> представляет собой 3, B2 представляет собой 2'-ОМе, n<sup>3</sup> представляет собой 7, n<sup>4</sup> представляет собой 0, B3 представляет собой 2'-ОМе, n<sup>5</sup> представляет собой 3, B1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>1</sup> представляет собой 9, T1' представляет собой 2'-F, q<sup>2</sup> представляет собой 1, B2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>3</sup> представляет собой 4, T2' представляет собой 2'-F, q<sup>4</sup> представляет собой 2, B3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>5</sup> представляет собой 5, T3' представляет собой 2'-F, q<sup>6</sup> представляет собой 1, B4' представляет собой 2'-F, и q<sup>7</sup> равно 1; с двумя модификациями тиофосфатной межнуклеотидной связи в положениях 1-5 смысловой цепи (считая от 5'-конца смысловой цепи), а также двумя модификациями тиофосфатной межнуклеотидной связи в положениях 1 и 2 и двумя модификациями тиофосфатной межнуклеотидной связи в положениях 18- 23 антисмысловой цепи (считая от 5'-конца антисмысловой цепи). РНКи агент также содержит 5'-PS2.

В одном варианте осуществления B1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n<sup>1</sup> представляет собой 8, T1 представляет собой 2'F, n<sup>2</sup> представляет собой 3, B2 представляет собой 2'-ОМе, n<sup>3</sup> представляет собой 7, n<sup>4</sup> представляет собой 0, B3 представляет собой 2'-ОМе, n<sup>5</sup> представляет собой 3, B1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>1</sup> представляет собой 9, T1' представляет собой 2'-F, q<sup>2</sup> представляет собой 1, B2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>3</sup> представляет собой 4, T2' представляет собой 2'-F, q<sup>4</sup> представляет собой 2, B3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>5</sup> представляет собой 5, T3' представляет собой 2'-F, q<sup>6</sup> представляет собой 1, B4' представляет собой 2'-F, и q<sup>7</sup> равно 1; с двумя модификациями тиофосфатной межнуклеотидной связи в положениях 1-5 смысловой цепи (считая от 5'-конца смысловой цепи), а также двумя модификациями тиофосфатной межнуклеотидной связи в положениях 1 и 2 и двумя модификациями тиофосфатной межнуклеотидной связи в положениях 18- 23 антисмысловой цепи (считая от 5'-конца антисмысловой цепи). РНКи агент также содержит 5'-дезоксигуанидин-5'-С-малонил.

В одном варианте осуществления B1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n<sup>1</sup> представляет собой 8, T1 представляет собой 2'F, n<sup>2</sup> представляет собой 3, B2 представляет собой 2'-ОМе, n<sup>3</sup> представляет собой 7, n<sup>4</sup> представляет собой 0, B3 представляет собой 2'-ОМе, n<sup>5</sup> представляет собой 3, B1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>1</sup> представляет собой 9, T1' представляет собой 2'-F, q<sup>2</sup> представляет собой 1, B2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>3</sup> представляет собой 4, q<sup>4</sup> представляет собой 0, B3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>5</sup> представляет собой 7, T3' представляет собой 2'-F, q<sup>6</sup> представляет собой 1, B4' представляет собой 2'-F, и q<sup>7</sup> представляет собой 1. РНКи агент также включает 5'-P.

В одном воплощении Например, B1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n<sup>1</sup> представляет собой 8, T1 представляет собой 2'F, n<sup>2</sup> представляет собой 3, B2 представляет собой 2'-ОМе, n<sup>3</sup> представляет собой 7, n<sup>4</sup> представляет собой 0, B3





V3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>5</sup> представляет собой 7, T3' представляет собой 2'-F, q<sup>6</sup> представляет собой 1, V4' представляет собой 2'-F, и q<sup>7</sup> представляет собой 1; с двумя модификациями тиофосфатной межнуклеотидной связи в положениях 1-5 смысловой цепи (считая от 5'-конца смысловой цепи), а также двумя модификациями тиофосфатной межнуклеотидной связи в положениях 1 и 2 и двумя модификациями тиофосфатной межнуклеотидной связи в положениях 18- 23 антисмысловой цепи (считая от 5'-конца антисмысловой цепи). РНКи агент также содержит 5'- PS<sub>2</sub>.

В одном варианте осуществления V1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n<sup>1</sup> представляет собой 8, T1 представляет собой 2'F, n<sup>2</sup> представляет собой 3, V2 представляет собой 2'-ОМе, n<sup>3</sup> представляет собой 7, n<sup>4</sup> представляет собой 0, V3 представляет собой 2'-ОМе, n<sup>5</sup> представляет собой 3, V1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>1</sup> представляет собой 9, T1' представляет собой 2'-F, q<sup>2</sup> представляет собой 1, V2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>3</sup> представляет собой 4, q<sup>4</sup> представляет собой 0, V3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>5</sup> представляет собой 7, T3' представляет собой 2'-F, q<sup>6</sup> представляет собой 1, V4' представляет собой 2'-F, и q<sup>7</sup> представляет собой 1; с двумя модификациями тиофосфатной межнуклеотидной связи в положениях 1-5 смысловой цепи (считая от 5'-конца смысловой цепи) и двумя модификациями тиофосфатной межнуклеотидной связи в положениях 1 и 2 и две модификации фосфоротиоатных межнуклеотидных связей в положениях 18-23 антисмысловой цепи (считая с 5'-конца антисмысловой цепи). РНКи агент также содержит 5'-дезоксигуанозин-5'-С-малонил.

В одном варианте осуществления V1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n<sup>1</sup> представляет собой 8, T1 представляет собой 2'F, n<sup>2</sup> представляет собой 3, V2 представляет собой 2'-ОМе, n<sup>3</sup> представляет собой 7, n<sup>4</sup> представляет собой 0, V3 представляет собой 2'-ОМе, n<sup>5</sup> представляет собой 3, V1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>1</sup> представляет собой 9, T1' представляет собой 2'-F, q<sup>2</sup> представляет собой 1, V2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>3</sup> представляет собой 4, T2' представляет собой 2'-F, q<sup>4</sup> представляет собой 2, V3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>5</sup> представляет собой 5, T3' представляет собой 2'-F, q<sup>6</sup> представляет собой 1, V4' представляет собой 2'-ОМе, и q<sup>7</sup> равно 1; с двумя модификациями тиофосфатной межнуклеотидной связи в положениях 1-5 смысловой цепи (считая от 5'-конца смысловой цепи), а также двумя модификациями тиофосфатной межнуклеотидной связи в положениях 1 и 2 и двумя модификациями тиофосфатной межнуклеотидной связи в положениях 18- 23 антисмысловой цепи (считая от 5'-конца антисмысловой цепи). РНКи агент также содержит 5'-P и нацеливающий лиганд. В одном варианте осуществления 5'-P находится на 5'-конце антисмысловой цепи, а нацеливающий лиганд находится на 3'-конце смысловой цепи.

В одном варианте осуществления V1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n<sup>1</sup> представляет собой 8, T1 представляет собой 2'F, n<sup>2</sup> представляет собой 3, V2 представляет собой 2'-ОМе, n<sup>3</sup> представляет собой 7, n<sup>4</sup> представляет собой 0, V3

представляет собой 2'-ОМе,  $n^5$  представляет собой 3, В1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F,  $q^1$  представляет собой 9, Т1' представляет собой 2'-F,  $q^2$  представляет собой 1, В2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F,  $q^3$  представляет собой 4, Т2' представляет собой 2'-F,  $q^4$  представляет собой 2, В3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F,  $q^5$  представляет собой 5, Т3' представляет собой 2'-F,  $q^6$  представляет собой 1, В4' представляет собой 2'-ОМе, и  $q^7$  равно 1; с двумя модификациями тиофосфатной межнуклеотидной связи в положениях 1-5 смысловой цепи (считая от 5'-конца смысловой цепи), а также двумя модификациями тиофосфатной межнуклеотидной связи в положениях 1 и 2 и двумя модификациями тиофосфатной межнуклеотидной связи в положениях 18- 23 антисмысловой цепи (считая от 5'-конца антисмысловой цепи). РНКи агент также содержит 5'-PS и нацеливающий лиганд. В одном варианте осуществления 5'-PS находится на 5'-конце антисмысловой цепи, а нацеливающий лиганд находится на 3'-конце смысловой цепи.

В одном варианте осуществления В1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F,  $n^1$  представляет собой 8, Т1 представляет собой 2'F,  $n^2$  представляет собой 3, В2 представляет собой 2'-ОМе,  $n^3$  представляет собой 7,  $n^4$  представляет собой 0, В3 представляет собой 2'-ОМе,  $n^5$  представляет собой 3, В1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F,  $q^1$  представляет собой 9, Т1' представляет собой 2'-F,  $q^2$  представляет собой 1, В2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F,  $q^3$  представляет собой 4, Т2' представляет собой 2'-F,  $q^4$  представляет собой 2, В3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F,  $q^5$  представляет собой 5, Т3' представляет собой 2'-F,  $q^6$  представляет собой 1, В4' представляет собой 2'-ОМе, и  $q^7$  равно 1; с двумя модификациями тиофосфатной межнуклеотидной связи в положениях 1-5 смысловой цепи (считая от 5'-конца смысловой цепи), а также двумя модификациями тиофосфатной межнуклеотидной связи в положениях 1 и 2 и двумя модификациями тиофосфатной межнуклеотидной связи в положениях 18- 23 антисмысловой цепи (считая от 5'-конца антисмысловой цепи). РНКи агент также содержит 5'-VP (например, 5'-E-VP, 5'-Z-VP или комбинацию таковых) и нацеливающий лиганд.

В одном варианте осуществления 5'-VP находится на 5'-конце антисмысловой цепи, а нацеливающий лиганд находится на 3'-конце смысловой цепи.

В одном варианте осуществления В1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F,  $n^1$  представляет собой 8, Т1 представляет собой 2'F,  $n^2$  представляет собой 3, В2 представляет собой 2'-ОМе,  $n^3$  представляет собой 7,  $n^4$  представляет собой 0, В3 представляет собой 2'-ОМе,  $n^5$  представляет собой 3, В1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F,  $q^1$  представляет собой 9, Т1' представляет собой 2'-F,  $q^2$  представляет собой 1, В2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F,  $q^3$  представляет собой 4, Т2' представляет собой 2'-F,  $q^4$  представляет собой 2, В3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F,  $q^5$  представляет собой 5, Т3' представляет собой 2'-F,  $q^6$  представляет собой 1, В4' представляет собой 2'-ОМе, и  $q^7$  равно 1; с двумя модификациями тиофосфатной межнуклеотидной связи в положениях 1-5 смысловой цепи (считая от 5'-конца смысловой цепи), а также двумя



модификациями тиофосфатной межнуклеотидной связи в положениях 1 и 2 и двумя модификациями тиофосфатной межнуклеотидной связи в положениях 18- 23 антисмысловой цепи (считая от 5'-конца антисмысловой цепи). РНКи агент также содержит 5'- PS<sub>2</sub> и нацеливающий лиганд. В одном варианте осуществления 5'- PS<sub>2</sub> находится на 5'-конце антисмысловой цепи, а нацеливающий лиганд находится на 3'-конце смысловой цепи.

В одном варианте осуществления В1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n<sup>1</sup> представляет собой 8, Т1 представляет собой 2'F, n<sup>2</sup> представляет собой 3, В2 представляет собой 2'-ОМе, n<sup>3</sup> представляет собой 7, n<sup>4</sup> представляет собой 0, В3 представляет собой 2'-ОМе, n<sup>5</sup> представляет собой 3, В1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>1</sup> представляет собой 9, Т1' представляет собой 2'-F, q<sup>2</sup> представляет собой 1, В2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>3</sup> представляет собой 4, Т2' представляет собой 2'-F, q<sup>4</sup> представляет собой 2, В3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>5</sup> представляет собой 5, Т3' представляет собой 2'-F, q<sup>6</sup> представляет собой 1, В4' представляет собой 2'-ОМе, и q<sup>7</sup> равно 1; с двумя модификациями тиофосфатной межнуклеотидной связи в положениях 1-5 смысловой цепи (считая от 5'-конца смысловой цепи), а также двумя модификациями тиофосфатной межнуклеотидной связи в положениях 1 и 2 и двумя модификациями тиофосфатной межнуклеотидной связи в положениях 18- 23 антисмысловой цепи (считая от 5'-конца антисмысловой цепи). РНКи агент также содержит 5'-дезоксигуанозин-5'-С-малонил и нацеливающий лиганд. В одном варианте осуществления 5'-дезоксигуанозин-5'-С-малонил находится на 5'-конце антисмысловой цепи, а нацеливающий лиганд находится на 3'-конце смысловой цепи.

В одном варианте осуществления В1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n<sup>1</sup> представляет собой 8, Т1 представляет собой 2'F, n<sup>2</sup> представляет собой 3, В2 представляет собой 2'-ОМе, n<sup>3</sup> представляет собой 7, n<sup>4</sup> представляет собой 0, В3 представляет собой 2'-ОМе, n<sup>5</sup> представляет собой 3, В1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>1</sup> представляет собой 9, Т1' представляет собой 2'-F, q<sup>2</sup> представляет собой 1, В2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>3</sup> представляет собой 4, q<sup>4</sup> представляет собой 0, В3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>5</sup> представляет собой 7, Т3' представляет собой 2'-F, q<sup>6</sup> представляет собой 1, В4' представляет собой 2'-ОМе, и q<sup>7</sup> представляет собой 1; с двумя модификациями фосфоротиоатных межнуклеотидных связей в положениях 1-5 смысловой цепи (считая с 5'-конца) и двумя модификациями фосфоротиоатных межнуклеотидных связей в положениях 1 и 2 и двумя модификациями фосфоротиоатных межнуклеотидных связей в положениях 18-23 антисмысловой цепи (считая с 5'-конца). РНКи агент также содержит 5'-P и нацеливающий лиганд. В одном варианте осуществления 5'-P находится на 5'-конце антисмысловой цепи, а нацеливающий лиганд находится на 3'-конце смысловой цепи.

В одном варианте осуществления В1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n<sup>1</sup> представляет собой 8, Т1 представляет собой 2'F, n<sup>2</sup> представляет собой 3, В2 представляет собой 2'-ОМе, n<sup>3</sup> представляет собой 7, n<sup>4</sup> представляет собой 0, В3

представляет собой 2'-ОМе, n<sup>5</sup> представляет собой 3, В1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>1</sup> представляет собой 9, Т1' представляет собой 2'-F, q<sup>2</sup> представляет собой 1, В2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>3</sup> представляет собой 4, q<sup>4</sup> представляет собой 0, В3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>5</sup> представляет собой 7, Т3' представляет собой 2'-F, q<sup>6</sup> представляет собой 1, В4' представляет собой 2'-ОМе, и q<sup>7</sup> представляет собой 1; с двумя модификациями фосфоротиоатных межнуклеотидных связей в положениях 1-5 смысловой цепи (считая с 5'-конца) и двумя модификациями фосфоротиоатных межнуклеотидных связей в положениях 1 и 2 и двумя модификациями фосфоротиоатных межнуклеотидных связей в положениях 18-23 антисмысловой цепи цепь (считая с 5'-конца). РНКи агент также содержит 5'-PS и нацеливающий лиганд. В одном варианте осуществления 5'-PS находится на 5'-конце антисмысловой цепи, а нацеливающий лиганд находится на 3'-конце смысловой цепи.

В одном варианте осуществления В1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n<sup>1</sup> представляет собой 8, Т1 представляет собой 2'F, n<sup>2</sup> представляет собой 3, В2 представляет собой 2'-ОМе, n<sup>3</sup> представляет собой 7, n<sup>4</sup> представляет собой 0, В3 представляет собой 2'-ОМе, n<sup>5</sup> представляет собой 3, В1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>1</sup> представляет собой 9, Т1' представляет собой 2'-F, q<sup>2</sup> представляет собой 1, В2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>3</sup> представляет собой 4, q<sup>4</sup> представляет собой 0, В3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>5</sup> представляет собой 7, Т3' представляет собой 2'-F, q<sup>6</sup> представляет собой 1, В4' представляет собой 2'-ОМе, и q<sup>7</sup> представляет собой 1; с двумя модификациями фосфоротиоатных межнуклеотидных связей в положениях 1-5 смысловой цепи (считая с 5'-конца) и двумя модификациями фосфоротиоатных межнуклеотидных связей в положениях 1 и 2 и двумя модификациями фосфоротиоатных межнуклеотидных связей в положениях 18-23 антисмысловой цепи цепь (считая с 5'-конца). РНКи агент также содержит 5'-VP (например, 5'-E-VP, 5'-Z-VP или комбинацию таковых) и нацеливающий лиганд. В одном варианте осуществления 5'-VP находится на 5'-конце антисмысловой цепи, а нацеливающий лиганд находится на 3'-конце смысловой цепи.

В одном варианте осуществления В1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n<sup>1</sup> представляет собой 8, Т1 представляет собой 2'F, n<sup>2</sup> представляет собой 3, В2 представляет собой 2'-ОМе, n<sup>3</sup> представляет собой 7, n<sup>4</sup> представляет собой 0, В3 представляет собой 2'-ОМе, n<sup>5</sup> представляет собой 3, В1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>1</sup> представляет собой 9, Т1' представляет собой 2'-F, q<sup>2</sup> представляет собой 1, В2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>3</sup> представляет собой 4, q<sup>4</sup> представляет собой 0, В3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>5</sup> представляет собой 7, Т3' представляет собой 2'-F, q<sup>6</sup> представляет собой 1, В4' представляет собой 2'-ОМе, и q<sup>7</sup> представляет собой 1; с двумя модификациями фосфоротиоатных межнуклеотидных связей в положениях 1-5 смысловой цепи (считая с 5'-конца) и двумя модификациями фосфоротиоатных межнуклеотидных связей в положениях 1 и 2 и двумя модификациями фосфоротиоатных межнуклеотидных связей в положениях 18-23 антисмысловой цепи цепь (считая с 5'-

конца). РНКи агент также содержит 5'-PS<sub>2</sub> и нацеливающий лиганд. В одном варианте осуществления 5'-PS<sub>2</sub> находится на 5'-конце антисмысловой цепи, а нацеливающий лиганд находится на 3'-конце смысловой цепи.

В одном варианте осуществления В1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n<sup>1</sup> представляет собой 8, T1 представляет собой 2'F, n<sup>2</sup> представляет собой 3, B2 представляет собой 2'-ОМе, n<sup>3</sup> представляет собой 7, n<sup>4</sup> представляет собой 0, B3 представляет собой 2'-ОМе, n<sup>5</sup> представляет собой 3, B1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>1</sup> представляет собой 9, T1' представляет собой 2'-F, q<sup>2</sup> представляет собой 1, B2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>3</sup> представляет собой 4, q<sup>4</sup> представляет собой 0, B3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>5</sup> представляет собой 7, T3' представляет собой 2'-F, q<sup>6</sup> представляет собой 1, B4' представляет собой 2'-ОМе, и q<sup>7</sup> представляет собой 1; с двумя модификациями фосфоротиоатных межнуклеотидных связей в положениях 1-5 смысловой цепи (считая с 5'-конца) и двумя модификациями фосфоротиоатных межнуклеотидных связей в положениях 1 и 2 и двумя модификациями фосфоротиоатных межнуклеотидных связей в положениях 18-23 антисмысловой цепи цепь (считая с 5'-конца). РНКи агент также содержит 5'-дезоксигуанозин-5'-С-малонил и нацеливающий лиганд. В одном варианте осуществления 5'-дезоксигуанозин-5'-С-малонил находится на 5'-конце антисмысловой цепи, а нацеливающий лиганд находится на 3'-конце смысловой цепи.

В одном варианте осуществления В1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n<sup>1</sup> представляет собой 8, T1 представляет собой 2'F, n<sup>2</sup> представляет собой 3, B2 представляет собой 2'-ОМе, n<sup>3</sup> представляет собой 7, n<sup>4</sup> представляет собой 0, B3 представляет собой 2'-ОМе, n<sup>5</sup> представляет собой 3, B1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>1</sup> представляет собой 9, T1' представляет собой 2'-F, q<sup>2</sup> представляет собой 1, B2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>3</sup> представляет собой 4, T2' представляет собой 2'-F, q<sup>4</sup> представляет собой 2, B3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>5</sup> представляет собой 5, T3' представляет собой 2'-F, q<sup>6</sup> представляет собой 1, B4' представляет собой 2'-F, и q<sup>7</sup> равно 1; с двумя модификациями тиофосфатной межнуклеотидной связи в положениях 1-5 смысловой цепи (считая от 5'-конца смысловой цепи), а также двумя модификациями тиофосфатной межнуклеотидной связи в положениях 1 и 2 и двумя модификациями тиофосфатной межнуклеотидной связи в положениях 18- 23 антисмысловой цепи (считая от 5'-конца антисмысловой цепи). РНКи агент также содержит 5'-P и нацеливающий лиганд. В одном варианте осуществления 5'-P находится на 5'-конце антисмысловой цепи, а нацеливающий лиганд находится на 3'-конце смысловой цепи.

В одном варианте осуществления В1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n<sup>1</sup> представляет собой 8, T1 представляет собой 2'F, n<sup>2</sup> представляет собой 3, B2 представляет собой 2'-ОМе, n<sup>3</sup> представляет собой 7, n<sup>4</sup> представляет собой 0, B3 представляет собой 2'-ОМе, n<sup>5</sup> представляет собой 3, B1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>1</sup> представляет собой 9, T1' представляет собой 2'-F, q<sup>2</sup> представляет собой 1, B2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>3</sup> представляет собой 4, T2' представляет собой 2'-

F,  $q^4$  представляет собой 2, B3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F,  $q^5$  представляет собой 5, T3' представляет собой 2'-F,  $q^6$  представляет собой 1, B4' представляет собой 2'-F, и  $q^7$  равно 1; с двумя модификациями тиофосфатной межнуклеотидной связи в положениях 1-5 смысловой цепи (считая от 5'-конца смысловой цепи), а также двумя модификациями тиофосфатной межнуклеотидной связи в положениях 1 и 2 и двумя модификациями тиофосфатной межнуклеотидной связи в положениях 18- 23 антисмысловой цепи (считая от 5'-конца антисмысловой цепи). РНКи агент также содержит 5'-PS и нацеливающий лиганд. В одном варианте осуществления 5'-PS находится на 5'-конце антисмысловой цепи, а нацеливающий лиганд находится на 3'-конце смысловой цепи.

В одном варианте осуществления B1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F,  $n^1$  представляет собой 8, T1 представляет собой 2'F,  $n^2$  представляет собой 3, B2 представляет собой 2'-ОМе,  $n^3$  представляет собой 7,  $n^4$  представляет собой 0, B3 представляет собой 2'-ОМе,  $n^5$  представляет собой 3, B1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F,  $q^1$  представляет собой 9, T1' представляет собой 2'-F,  $q^2$  представляет собой 1, B2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F,  $q^3$  представляет собой 4, T2' представляет собой 2'-F,  $q^4$  представляет собой 2, B3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F,  $q^5$  представляет собой 5, T3' представляет собой 2'-F,  $q^6$  представляет собой 1, B4' представляет собой 2'-F, и  $q^7$  равно 1; с двумя модификациями тиофосфатной межнуклеотидной связи в положениях 1-5 смысловой цепи (считая от 5'-конца смысловой цепи), а также двумя модификациями тиофосфатной межнуклеотидной связи в положениях 1 и 2 и двумя модификациями тиофосфатной межнуклеотидной связи в положениях 18- 23 антисмысловой цепи (считая от 5'-конца антисмысловой цепи). РНКи агент также содержит 5'-VP (например, 5'-E-VP, 5'-Z-VP или комбинацию таковых) и нацеливающий лиганд. В одном варианте осуществления 5'-VP находится на 5'-конце антисмысловой цепи, а нацеливающий лиганд находится на 3'-конце смысловой цепи.

В одном варианте осуществления B1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F,  $n^1$  представляет собой 8, T1 представляет собой 2'F,  $n^2$  представляет собой 3, B2 представляет собой 2'-ОМе,  $n^3$  представляет собой 7,  $n^4$  представляет собой 0, B3 представляет собой 2'-ОМе,  $n^5$  представляет собой 3, B1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F,  $q^1$  представляет собой 9, T1' представляет собой 2'-F,  $q^2$  представляет собой 1, B2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F,  $q^3$  представляет собой 4, T2' представляет собой 2'-F,  $q^4$  представляет собой 2, B3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F,  $q^5$  представляет собой 5, T3' представляет собой 2'-F,  $q^6$  представляет собой 1, B4' представляет собой 2'-F, и  $q^7$  равно 1; с двумя модификациями тиофосфатной межнуклеотидной связи в положениях 1-5 смысловой цепи (считая от 5'-конца смысловой цепи), а также двумя модификациями тиофосфатной межнуклеотидной связи в положениях 1 и 2 и двумя модификациями тиофосфатной межнуклеотидной связи в положениях 18- 23 антисмысловой цепи (считая от 5'-конца антисмысловой цепи). РНКи агент также содержит 5'- PS<sub>2</sub> и нацеливающий лиганд. В одном варианте осуществления 5'- PS<sub>2</sub>

находится на 5'-конце антисмысловой цепи, а нацеливающий лиганд находится на 3'-конце смысловой цепи.

В одном варианте осуществления В1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F,  $n^1$  представляет собой 8, Т1 представляет собой 2'F,  $n^2$  представляет собой 3, В2 представляет собой 2'-ОМе,  $n^3$  представляет собой 7,  $n^4$  представляет собой 0, В3 представляет собой 2'-ОМе,  $n^5$  представляет собой 3, В1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F,  $q^1$  представляет собой 9, Т1' представляет собой 2'-F,  $q^2$  представляет собой 1, В2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F,  $q^3$  представляет собой 4, Т2' представляет собой 2'-F,  $q^4$  представляет собой 2, В3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F,  $q^5$  представляет собой 5, Т3' представляет собой 2'-F,  $q^6$  представляет собой 1, В4' представляет собой 2'-F, и  $q^7$  равно 1; с двумя модификациями тиофосфатной межнуклеотидной связи в положениях 1-5 смысловой цепи (считая от 5'-конца смысловой цепи), а также двумя модификациями тиофосфатной межнуклеотидной связи в положениях 1 и 2 и двумя модификациями тиофосфатной межнуклеотидной связи в положениях 18- 23 антисмысловой цепи (считая от 5'-конца антисмысловой цепи). РНКи агент также содержит 5'-дезоксигуанозин-5'-С-малонил и нацеливающий лиганд. В одном варианте осуществления 5'-дезоксигуанозин-5'-С-малонил находится на 5'-конце антисмысловой цепи, а нацеливающий лиганд находится на 3'-конце смысловой цепи.

В одном варианте осуществления В1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F,  $n^1$  представляет собой 8, Т1 представляет собой 2'F,  $n^2$  представляет собой 3, В2 представляет собой 2'-ОМе,  $n^3$  представляет собой 7,  $n^4$  представляет собой 0, В3 представляет собой 2'-ОМе,  $n^5$  представляет собой 3, В1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F,  $q^1$  представляет собой 9, Т1' представляет собой 2'-F,  $q^2$  представляет собой 1, В2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F,  $q^3$  представляет собой 4,  $q^4$  представляет собой 0, В3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F,  $q^5$  представляет собой 7, Т3' представляет собой 2'-F,  $q^6$  представляет собой 1, В4' представляет собой 2'-F, и  $q^7$  представляет собой 1; с двумя модификациями тиофосфатной межнуклеотидной связи в положениях 1-5 смысловой цепи (считая от 5'-конца смысловой цепи), а также двумя модификациями тиофосфатной межнуклеотидной связи в положениях 1 и 2 и двумя модификациями тиофосфатной межнуклеотидной связи в положениях 18- 23 антисмысловой цепи (считая от 5'-конца антисмысловой цепи). РНКи агент также содержит 5'-Р и нацеливающий лиганд. В одном варианте осуществления 5'-Р находится на 5'-конце антисмысловой цепи, а нацеливающий лиганд находится на 3'-конце смысловой цепи.

В одном варианте осуществления В1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F,  $n^1$  представляет собой 8, Т1 представляет собой 2'F,  $n^2$  представляет собой 3, В2 представляет собой 2'-ОМе,  $n^3$  представляет собой 7,  $n^4$  представляет собой 0, В3 представляет собой 2'-ОМе,  $n^5$  представляет собой 3, В1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F,  $q^1$  представляет собой 9, Т1' представляет собой 2'-F,  $q^2$  представляет собой 1, В2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F,  $q^3$  представляет собой 4,  $q^4$  представляет собой 0, В3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F,  $q^5$  представляет собой 7, Т3' представляет собой

2'-F, q<sup>6</sup> представляет собой 1, B4' представляет собой 2'-F, и q<sup>7</sup> равно 1; с двумя модификациями тиофосфатной межнуклеотидной связи в положениях 1-5 смысловой цепи (считая от 5'-конца смысловой цепи), а также двумя модификациями тиофосфатной межнуклеотидной связи в положениях 1 и 2 и двумя модификациями тиофосфатной межнуклеотидной связи в положениях 18- 23 антисмысловой цепи (считая от 5'-конца антисмысловой цепи). РНКи агент также содержит 5'-PS и нацеливающий лиганд. В одном варианте осуществления 5'-PS находится на 5'-конце антисмысловой цепи, а нацеливающий лиганд находится на 3'-конце смысловой цепи.

В одном варианте осуществления B1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n<sup>1</sup> представляет собой 8, T1 представляет собой 2'F, n<sup>2</sup> представляет собой 3, B2 представляет собой 2'-ОМе, n<sup>3</sup> представляет собой 7, n<sup>4</sup> представляет собой 0, B3 представляет собой 2'-ОМе, n<sup>5</sup> представляет собой 3, B1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>1</sup> представляет собой 9, T1' представляет собой 2'-F, q<sup>2</sup> представляет собой 1, B2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>3</sup> представляет собой 4, q<sup>4</sup> представляет собой 0, B3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>5</sup> представляет собой 7, T3' представляет собой 2'-F, q<sup>6</sup> представляет собой 1, B4' представляет собой 2'-F, и q<sup>7</sup> представляет собой 1; с двумя модификациями тиофосфатной межнуклеотидной связи в положениях 1-5 смысловой цепи (считая от 5'-конца смысловой цепи), а также двумя модификациями тиофосфатной межнуклеотидной связи в положениях 1 и 2 и двумя модификациями тиофосфатной межнуклеотидной связи в положениях 18- 23 антисмысловой цепи (считая от 5'-конца антисмысловой цепи). РНКи агент также содержит 5'-VP (например, 5'-E-VP, 5'-Z-VP или комбинацию таковых) и нацеливающий лиганд. В одном варианте осуществления 5'-VP находится на 5'-конце антисмысловой цепи, а нацеливающий лиганд находится на 3'-конце смысловой цепи.

В одном варианте осуществления B1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n<sup>1</sup> представляет собой 8, T1 представляет собой 2'F, n<sup>2</sup> представляет собой 3, B2 представляет собой 2'-ОМе, n<sup>3</sup> представляет собой 7, n<sup>4</sup> представляет собой 0, B3 представляет собой 2'-ОМе, n<sup>5</sup> представляет собой 3, B1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>1</sup> представляет собой 9, T1' представляет собой 2'-F, q<sup>2</sup> представляет собой 1, B2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>3</sup> представляет собой 4, q<sup>4</sup> представляет собой 0, B3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>5</sup> представляет собой 7, T3' представляет собой 2'-F, q<sup>6</sup> представляет собой 1, B4' представляет собой 2'-F, и q<sup>7</sup> представляет собой 1; с двумя модификациями тиофосфатной межнуклеотидной связи в положениях 1-5 смысловой цепи (считая от 5'-конца смысловой цепи), а также двумя модификациями тиофосфатной межнуклеотидной связи в положениях 1 и 2 и двумя модификациями тиофосфатной межнуклеотидной связи в положениях 18- 23 антисмысловой цепи (считая от 5'-конца антисмысловой цепи). РНКи агент также содержит 5'- PS<sub>2</sub> и нацеливающий лиганд. В одном варианте осуществления 5'- PS<sub>2</sub> находится на 5'-конце антисмысловой цепи, а нацеливающий лиганд находится на 3'-конце смысловой цепи.

В одном варианте осуществления B1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n<sup>1</sup>

представляет собой 8, T1 представляет собой 2'F, n<sup>2</sup> представляет собой 3, B2 представляет собой 2'-ОМе, n<sup>3</sup> представляет собой 7, n<sup>4</sup> представляет собой 0, B3 представляет собой 2'-ОМе, n<sup>5</sup> представляет собой 3, B1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>1</sup> представляет собой 9, T1' представляет собой 2'-F, q<sup>2</sup> представляет собой 1, B2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>3</sup> представляет собой 4, q<sup>4</sup> представляет собой 0, B3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>5</sup> представляет собой 7, T3' представляет собой 2'-F, q<sup>6</sup> представляет собой 1, B4' представляет собой 2'-F, и q<sup>7</sup> представляет собой 1; с двумя модификациями тиофосфатной межнуклеотидной связи в положениях 1-5 смысловой цепи (считая от 5'-конца смысловой цепи), а также двумя модификациями тиофосфатной межнуклеотидной связи в положениях 1 и 2 и двумя модификациями тиофосфатной межнуклеотидной связи в положениях 18- 23 антисмысловой цепи (считая от 5'-конца антисмысловой цепи). РНКи агент также содержит 5'-дезоксипентозу-5'-С-малонил и нацеливающий лиганд. В одном варианте осуществления 5'-дезоксипентозу-5'-С-малонил находится на 5'-конце антисмысловой цепи, а нацеливающий лиганд находится на 3'-конце смысловой цепи.

В конкретном варианте осуществления агент РНК-интерференции по настоящему изобретению содержит:

а) смысловую цепь, имеющую:

(i) 21 нуклеотид в длину;

(ii) лиганд ASGPR, присоединенный к 3'-концу, где указанный лиганд ASGPR содержит три производных GalNAc, присоединенных через трехвалентный разветвленный линкер; а также

(iii) модификации 2'-F в положениях 1, 3, 5, 7, 9-11, 13, 17, 19 и 21 и модификации 2'-ОМе в положениях 2, 4, 6, 8, 12, 14 до 16, 18 и 20 (считая с 5'-конца);

а также

(b) антисмысловую цепь, имеющую:

(i) 23 нуклеотида в длину;

(ii) модификации 2'-ОМе в положениях 1, 3, 5, 9, с 11 по 13, 15, 17, 19, 21 и 23 и модификации 2'F в положениях с 2, 4, 6 по 8, 10, 14, 16, 18, 20 и 22 (считая с 5'-конца); а также

(iii) фосфоротиоатные межнуклеотидные связи между положениями нуклеотидов 21 и 22, а также между положениями нуклеотидов 22 и 23 (считая с 5'-конца);

при этом агенты dsРНК имеют концевой выступ из двух нуклеотидов на 3'-конце антисмысловой цепи и тупой конец на 5'-конце антисмысловой цепи.

В другом конкретном варианте осуществления агент РНК-интерференции по настоящему изобретению содержит:

а) смысловую цепь, имеющую:

(i) 21 нуклеотид в длину;

(ii) лиганд ASGPR, присоединенный к 3'-концу, где указанный лиганд ASGPR содержит три производных GalNAc, присоединенных через трехвалентный разветвленный

линкер;

(iii) модификации 2'-F в положениях 1, 3, 5, 7, 9-11, 13, 15, 17, 19 и 21 и модификации 2'-ОМе в положениях 2, 4, 6, 8, 12, 14, 16, 18 и 20 (считая с 5'-конца); а также

(iv) фосфоротиоатные межнуклеотидные связи между положениями нуклеотидов 1 и 2, а также между положениями нуклеотидов 2 и 3 (считая с 5'-конца);

а также

(b) антисмысловую цепь, имеющую:

(i) 23 нуклеотида в длину;

(ii) модификации 2'-ОМе в положениях 1, 3, 5, 7, 9, с 11 по 13, 15, 17, 19 и с 21 по 23 и модификации 2'F в положениях 2, 4, 6, 8, 10, 14, 16, 18 и 20 (считая с 5'-конца); а также

(iii) фосфоротиоатные межнуклеотидные связи между положениями нуклеотидов 1 и 2, между положениями нуклеотидов 2 и 3, между положениями нуклеотидов 21 и 22 и между положениями нуклеотидов 22 и 23 (считая с 5'-конца);

при этом РНКи агенты имеют концевой выступ из двух нуклеотидов на 3'-конце антисмысловой цепи и тупой конец на 5'-конце антисмысловой цепи.

В другом конкретном варианте осуществления агент РНК-интерференции по настоящему изобретению содержит:

а) смысловую цепь, имеющую:

(i) 21 нуклеотид в длину;

(ii) лиганд ASGPR, присоединенный к 3'-концу, где указанный лиганд ASGPR содержит три производных GalNAc, присоединенных через трехвалентный разветвленный линкер;

(iii) модификации 2'-ОМе в положениях с 1 по 6, 8, 10 и с 12 по 21, модификации 2'-F в положениях 7 и 9 и дезоксинуклеотид (например, dT) в положении 11 (считая от 5'-конец); а также

(iv) фосфоротиоатные межнуклеотидные связи между положениями нуклеотидов 1 и 2, а также между положениями нуклеотидов 2 и 3 (считая с 5'-конца);

а также

(b) антисмысловую цепь, имеющая:

(i) 23 нуклеотида в длину;

(ii) модификации 2'-ОМе в положениях 1, 3, 7, 9, 11, 13, 15, 17 и с 19 по 23 и модификации 2'-F в положениях 2, 4 до 6, 8, 10, 12, 14, 16 и 18 (считая с 5'-конца); а также

(iii) фосфоротиоатные межнуклеотидные связи между положениями нуклеотидов 1 и 2, между положениями нуклеотидов 2 и 3, между положениями нуклеотидов 21 и 22 и между положениями нуклеотидов 22 и 23 (считая с 5'-конца);

при этом РНКи агенты имеют концевой выступ из двух нуклеотидов на 3'-конце антисмысловой цепи и тупой конец на 5'-конце антисмысловой цепи.

В другом конкретном варианте осуществления агент РНК-интерференции по



настоящему изобретению содержит:

а) смысловую цепь, имеющую:

(i) 21 нуклеотид в длину;

(ii) лиганд ASGPR, присоединенный к 3'-концу, где указанный лиганд ASGPR содержит три производных GalNAc, присоединенных через трехвалентный разветвленный линкер;

(iii) модификации 2'-ОМе в положениях с 1 по 6, 8, 10, 12, 14 и с 16 по 21 и модификации 2'-F в положениях 7, 9, 11, 13 и 15; а также

(iv) фосфоротиоатные межнуклеотидные связи между положениями нуклеотидов 1 и 2, а также между положениями нуклеотидов 2 и 3 (считая с 5'-конца);

а также

(b) антисмысловую цепь, имеющую:

(i) 23 нуклеотида в длину;

(ii) модификации 2'-ОМе в положениях 1, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19 и с 21 по 23 и модификации 2'-F в положениях со 2 по 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18 и 20 (считая с 5'-конца); а также

(iii) фосфоротиоатные межнуклеотидные связи между положениями нуклеотидов 1 и 2, между положениями нуклеотидов 2 и 3, между положениями нуклеотидов 21 и 22 и между положениями нуклеотидов 22 и 23 (считая с 5'-конца);

при этом РНКи агенты имеют концевой выступ из двух нуклеотидов на 3'-конце антисмысловой цепи и тупой конец на 5'-конце антисмысловой цепи.

В другом конкретном варианте осуществления РНКи агент по настоящему изобретению содержит:

а) смысловую цепь, имеющую:

(i) 21 нуклеотид в длину;

(ii) лиганд ASGPR, присоединенный к 3'-концу, где указанный лиганд ASGPR содержит три производных GalNAc, присоединенных через трехвалентный разветвленный линкер;

(iii) модификации 2'-ОМе в положениях с 1 по 9 и с 12 по 21 и модификации 2'-F в положениях 10 и 11; а также

(iv) фосфоротиоатные межнуклеотидные связи между положениями нуклеотидов 1 и 2, а также между положениями нуклеотидов 2 и 3 (считая с 5'-конца);

а также

(b) антисмысловую цепь, имеющую:

(i) 23 нуклеотида в длину;

(ii) модификации 2'-ОМе в положениях 1, 3, 5, 7, 9, с 11 по 13, 15, 17, 19 и с 21 по 23 и модификации 2'-F в положениях 2, 4, 6, 8, 10, 14, 16, 18 и 20 (считая с 5'-конца); а также

(iii) фосфоротиоатные межнуклеотидные связи между положениями нуклеотидов 1 и 2, между положениями нуклеотидов 2 и 3, между положениями нуклеотидов 21 и 22 и

между положениями нуклеотидов 22 и 23 (считая с 5'-конца);

при этом РНКи агенты имеют концевой выступ из двух нуклеотидов на 3'-конце антисмысловой цепи и тупой конец на 5'-конце антисмысловой цепи.

В другом конкретном варианте осуществления РНКи агент по настоящему изобретению содержит:

а) смысловую цепь, имеющую:

(i) 21 нуклеотид в длину;

(ii) лиганд ASGPR, присоединенный к 3'-концу, где указанный лиганд ASGPR содержит три производных GalNAc, присоединенных через трехвалентный разветвленный линкер;

(iii) модификации 2'-F в положениях 1, 3, 5, 7, 9-11 и 13 и модификации 2'-ОМе в положениях 2, 4, 6, 8, 12 и 14-21; а также

(iv) фосфоротиоатные межнуклеотидные связи между положениями нуклеотидов 1 и 2, а также между положениями нуклеотидов 2 и 3 (считая с 5'-конца);

а также

(b) антисмысловую цепь, имеющую:

(i) 23 нуклеотида в длину;

(ii) модификации 2'-ОМе в положениях 1, 3, с 5 по 7, 9, с 11 по 13, 15, с 17 по 19 и с 21 по 23, а также модификации 2'-F в положениях 2, 4, 8, 10, 14, 16 и 20 (считая с 5'-конца); а также

(iii) фосфоротиоатные межнуклеотидные связи между положениями нуклеотидов 1 и 2, между положениями нуклеотидов 2 и 3, между положениями нуклеотидов 21 и 22 и между положениями нуклеотидов 22 и 23 (считая с 5'-конца);

при этом РНКи агенты имеют концевой выступ из двух нуклеотидов на 3'-конце антисмысловой цепи и тупой конец на 5'-конце антисмысловой цепи.

В другом конкретном варианте осуществления агент РНК-интерференции по настоящему изобретению содержит:

а) смысловую цепь, имеющую:

(i) 21 нуклеотид в длину;

(ii) лиганд ASGPR, присоединенный к 3'-концу, где указанный лиганд ASGPR содержит три производных GalNAc, присоединенных через трехвалентный разветвленный линкер;

(iii) модификации 2'-ОМе в положениях 1, 2, 4, 6, 8, 12, 14, 15, 17 и с 19 по 21 и модификации 2'-F в положениях 3, 5, 7, 9-11, 13, 16 и 18; а также

(iv) фосфоротиоатные межнуклеотидные связи между положениями нуклеотидов 1 и 2, а также между положениями нуклеотидов 2 и 3 (считая с 5'-конца);

а также

(b) антисмысловую цепь, имеющую:

(i) 25 нуклеотидов в длину;

(ii) модификации 2'-ОМе в положениях 1, 4, 6, 7, 9, с 11 по 13, 15, 17 и с 19 по 23,

модификации 2'-F в положениях 2, 3, 5, 8, 10, 14, 16 и 18, и дезоксинуклеотиды (например, dT) в положениях 24 и 25 (считая с 5'-конца); а также

(iii) фосфоротиоатные межнуклеотидные связи между положениями нуклеотидов 1 и 2, между положениями нуклеотидов 2 и 3, между положениями нуклеотидов 21 и 22 и между положениями нуклеотидов 22 и 23 (считая с 5'-конца);

при этом РНКи агенты имеют концевой выступ из четырех нуклеотидов на 3'-конце антисмысловой цепи и тупой конец на 5'-конце антисмысловой цепи.

В другом конкретном варианте осуществления агент РНК-интерференции по настоящему изобретению содержит:

а) смысловую цепь, имеющую:

(i) 21 нуклеотид в длину;

(ii) лиганд ASGPR, присоединенный к 3'-концу, где указанный лиганд ASGPR содержит три производных GalNAc, присоединенных через трехвалентный разветвленный линкер;

(iii) модификации 2'-ОМе в положениях с 1 по 6, 8 и с 12 по 21 и модификации 2'-F в положениях 7 и с 9 по 11; а также

(iv) фосфоротиоатные межнуклеотидные связи между положениями нуклеотидов 1 и 2, а также между положениями нуклеотидов 2 и 3 (считая с 5'-конца);

а также

(b) антисмысловую цепь, имеющую:

(i) 23 нуклеотида в длину;

(ii) модификации 2'-ОМе в положениях 1, с 3 по 5, 7, 8, с 10 по 13, 15 и с 17 по 23 и модификации 2'-F в положениях 2, 6, 9, 14 и 16 (считая с 5' конца); а также

(iii) фосфоротиоатные межнуклеотидные связи между положениями нуклеотидов 1 и 2, между положениями нуклеотидов 2 и 3, между положениями нуклеотидов 21 и 22 и между положениями нуклеотидов 22 и 23 (считая с 5'-конца);

при этом РНКи агенты имеют концевой выступ из двух нуклеотидов на 3'-конце антисмысловой цепи и тупой конец на 5'-конце антисмысловой цепи.

В другом конкретном варианте осуществления агент РНК-интерференции по настоящему изобретению содержит:

а) смысловую цепь, имеющую:

(i) 21 нуклеотид в длину;

(ii) лиганд ASGPR, присоединенный к 3'-концу, где указанный лиганд ASGPR содержит три производных GalNAc, присоединенных через трехвалентный разветвленный линкер;

(iii) модификации 2'-ОМе в положениях с 1 по 6, 8 и с 12 по 21 и модификации 2'-F в положениях 7 и с 9 по 11; а также

(iv) фосфоротиоатные межнуклеотидные связи между положениями нуклеотидов 1 и 2, а также между положениями нуклеотидов 2 и 3 (считая с 5'-конца);

а также

(b) антисмысловую цепь, имеющую:

(i) 23 нуклеотида в длину;

(ii) модификации 2'-ОМе в положениях 1, с 3 по 5, 7, с 10 по 13, 15 и с 17 по 23 и модификации 2'-F в положениях 2, 6, 8, 9, 14 и 16 ( считая с 5' конца); а также

(iii) фосфоротиоатные межнуклеотидные связи между положениями нуклеотидов 1 и 2, между положениями нуклеотидов 2 и 3, между положениями нуклеотидов 21 и 22 и между положениями нуклеотидов 22 и 23 (считая с 5'-конца);

при этом РНКи агенты имеют концевой выступ из двух нуклеотидов на 3'-конце антисмысловой цепи и тупой конец на 5'-конце антисмысловой цепи.

В другом конкретном варианте осуществления агент РНК-интерференции по настоящему изобретению содержит:

а) смысловую цепь, имеющую:

(i) 19 нуклеотидов в длину;

(ii) лиганд ASGPR, присоединенный к 3'-концу, где указанный лиганд ASGPR содержит три производных GalNAc, присоединенных через трехвалентный разветвленный линкер;

(iii) модификации 2'-ОМе в положениях с 1 по 4, 6 и с 10 по 19 и модификации 2'-F в положениях 5 и с 7 по 9; а также

(iv) фосфоротиоатные межнуклеотидные связи между нуклеотидами в положениях 1 и 2 и между нуклеотидами в положениях варианты 2 и 3 (считая с 5'-конца);

а также

(b) антисмысловую цепь, имеющую:

(i) 21 нуклеотид в длину;

(ii) модификации 2'-ОМе в положениях 1, с 3 по 5, 7, с 10 по 13, 15 и с 17 по 21 и модификации 2'-F в положениях 2, 6, 8, 9, 14 и 16 ( считая с 5' конца); а также

(iii) фосфоротиоатные межнуклеотидные связи между положениями нуклеотидов 1 и 2, между положениями нуклеотидов 2 и 3, между положениями нуклеотидов 19 и 20 и между положениями нуклеотидов 20 и 21 (считая с 5'-конца);

при этом РНКи агенты имеют концевой выступ из двух нуклеотидов на 3'-конце антисмысловой цепи и тупой конец на 5'-конце антисмысловой цепи.

В некоторых вариантах осуществления иРНК для применения в способах по изобретению представляет собой агент, выбранный из агентов, перечисленных в любой из Таблиц 2-11, 21, 24, 27, 30, 32, 33, 36, 37, 49 или 50. Эти агенты могут дополнительно содержать лиганд.

### **III. иРНК, конъюгированные с лигандами**

Другая модификация РНК, принадлежащей к иРНК по изобретению, включает химическое связывание с иРНК одного или более лигандов, фрагментов или конъюгатов, усиливающих активность, клеточное распределение или клеточное поглощение иРНК, например, перенос в клетку. Такие фрагменты включают, без ограничения таковыми, липидные фрагменты, такие как холестеринный фрагмент (*Letsinger et al., Proc. Natl.*

*Acid. Sci. USA*, 1989, 86: 6553-6556). В других вариантах лигандом является холевая кислота (*Manoharan et al., Biorg. Med. Chem. Lett.*, 1994, 4:1053-1060), тиоэфир, например, берил-S-тримитиол (*Manoharan et al., Ann N.Y.Acad.Sci.*, 1992, 660:306-309; *Manoharan et al., Biorg.Med.Chem.Lett.*, 1993, 3:2765-2770), тиохолестерол (*Oberhauser et al., Nucl. Acids Res.*, 1992, 20:533-538), алифатическая цепь, например, додекандиол или ундецильные остатки (*Saison-Behmoaras et al., EMBO J*, 1991, 10:1111-1118; *Kabanov et al., FEBS Lett.*, 1990), 259:327-330; *Svinarchuk et al., Biochimie*, 1993, 75:49-54), фосфолипид, например, ди-гексадецил-рац-глицерин или триэтиламмоний 1,2-ди-О-гексадецил-рац-глицеро-3-фосфонат (*Manoharan et al., Tetrahedron Lett.*, 1995, 36:3651-3654; *Shea et al., Nucl. Acids Res.*, 1990, 18:3777-3783), полиаминовые или полиэтиленгликолевые цепи (*Manoharan et al., Nucleosides & Nucleotides*, 1995, 14:969-973) или адамантануксусная кислота (*Manoharan et al., Tetrahedron Lett.*, 1995, 36:3651-3654), пальмитильная составляющая (*Mishra et al., Biochim. Biophys. Acta*, 1995, 1264:229-237), или октадециламиновая или гексиламинокарбонилкоксистероиновая составляющая (*Crooke et al., J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1996, 277:923-937).

В некоторых вариантах осуществления лиганд изменяет распределение, нацеливание или продолжительность жизни иРНК агента, в который он включен. В предпочтительных вариантах осуществления лиганд обеспечивает повышенную аффинность к выбранной мишени, например, молекуле, клетке или типу клеток, компартменту, например, клеточному или органному компартменту, ткани, органу или области тела, например, по сравнению с агентами, к которым отсутствует такой лиганд. Предпочтительные лиганды не участвуют в спаривании дуплексов в дуплексной нуклеиновой кислоте.

Лиганды могут включать природное вещество, такое как белок (например, человеческий сывороточный альбумин (HSA), липопротеин низкой плотности (LDL) или глобулин); углевод (например, декстран, пуллулан, хитин, хитозан, инулин, циклодекстрин, N-ацетилглюкозамин, N-ацетилгалактозамин или гиалуроновую кислоту); или липид. Лиганд также может быть рекомбинантной или синтетической молекулой, такой как синтетический полимер, например, синтетическая полиаминокислота. Примеры полиаминокислот включают полиаминокислоту, представляющую собой полилизин (PLL), поли-L-аспарагиновую кислоту, поли-L-глутаминовую кислоту, сополимер стирола и малеинового ангидрида, сополимер поли(L-лактида и гликоля), сополимер дивинилового эфира и малеинового ангидрида, сополимер N-(2-гидроксипропил)метакриламида (НМРА), полиэтиленгликоль (PEG), поливиниловый спирт (PVA), полиуретан, поли(2-этилакриловую кислоту), полимеры N-изопропилакриламида или полифосфазин. Примеры полиаминов включают: полиэтиленимин, полилизин (PLL), спермин, спермидин, полиамин, псевдопептид-полиамин, пептидомиметический полиамин, дендримерный полиамин, аргинин, амидин, протамин, катионный липид, катионный порфилин, четвертичную соль полиамина или альфа-спиральный пептид.

Лиганды также могут включать группы направленного действия, например агент, направленный на клетку или ткань, например, лектин, гликопротеин, липид или белок, например, антитело, которое связывается с определенным типом клеток, таким как клетка почки. Целевая группа может представлять собой тиротропин, меланотропин, лектин, гликопротеин, поверхностно-активный белок А, углевод муцина, поливалентную лактозу, поливалентную галактозу, N-ацетилгалактозамин, поливалентную N-ацетилглюкозамин маннозу, поливалентную фукозу, гликозилированные полиаминокислоты, поливалентную галактозу, трансферрин, бисфосфонат, полиглутамат, полиаспартат, липид, холестерин, стероид, желчную кислоту, фолат, витамин В12, витамин А, биотин или пептид RGD или миметик пептида RGD. В некоторых вариантах осуществления лиганд представляет собой поливалентную галактозу, например, N-ацетилгалактозамин.

Другие примеры лигандов включают красители, т.е. интеркалирующие агенты (например, акридины), сшивающие агенты (например, псорален, митомицин С), порфирины (TPPC4, тексафирин, сапфирин), полициклические ароматические углеводороды (например, феназин, дигидрофеназин), искусственные эндонуклеазы (например, EDTA), липофильные молекулы, такие как, холестерин, холевая кислота, адамантануксусная кислота, 1-пиренмасляная кислота, дигидротестостерон, 1,3-бис-О(гексадецил)глицерин, геранилоксигексильная группа, гексадецилглицерин, борнеол, ментол, 1,3-пропандиол, гептадецил-группа, пальмитиновая кислота, миристиновая кислота, О3-(олеоил)лихолевая кислота, О3-(олеоил)холеновая кислота, диметокситритил или феноксазин) и конъюгаты пептидов (например, пептид антеннопедии, пептид Tat), алкилирующие агенты, фосфат, амино, меркапто, PEG (например, PEG-40K), MPEG, [MPEG]<sub>2</sub>, полиамино, алкил, замещенный алкил, маркеры с радиоактивной меткой, ферменты, гаптены (например, биотин), облегчающие транспорт/всасывание (например, аспирин, витамин Е, фолиевая кислота), синтетические рибонуклеазы (например, имидазол, бисимидазол, гистамин, кластеры имидазола, кридин-имидазольные конъюгаты, Eu<sup>3+</sup>-комплексы тетраазамакроциклов), динитрофенил, HRP или AP.

Лиганды могут быть белками, например, гликопротеинами, или пептидами, например, молекулами, обладающими специфическим сродством к ко-лиганду, или антителами, например, антителом, которое связывается с определенным типом клеток, таким как клетка печени. Лиганды могут также включать гормоны и гормональные рецепторы. Они также могут включать непептидные соединения, такие как липиды, лектины, углеводы, витамины, кофакторы, поливалентную лактозу, поливалентную галактозу, N-ацетилгалактозамин, N-ацетилглюкозамин, поливалентную маннозу или поливалентную фукозу. Лиганд может представлять собой, например, липополисахарид, активатор киназы p38 MAP или активатор NF-κB.

Лиганд может быть веществом, например, лекарственным средством, которое может увеличить поглощение иРНК агента клеткой, например, путем разрушения цитоскелета клетки, например, путем разрушения клеточных микротрубочек,

микрофиламентов или промежуточных филаментов. Лекарственным средством может быть, например, таксол, винкристин, винбластин, цитохалазин, нокодазол, джаплакинолид, латрункулин А, фаллоидин, свинголид А, инданоцин или миосервин.

В некоторых вариантах осуществления лиганд, присоединенный к иРНК, как описано в настоящем изобретении, действует как фармакокинетический модулятор (модулятор фармакокинетики, ФК). Модуляторы ФК включают липофилы, желчные кислоты, стероиды, аналоги фосфолипидов, пептиды, агенты, связывающие белки, ПЭГ, витамины и т.д. Примеры модуляторов ФК включают, без ограничения таковыми, холестерин, жирные кислоты, холевую кислоту, литохолевую кислоту, диалкилглицериды, диацилглицериды, фосфолипиды, сфинголипиды, напроксен, ибупрофен, витамин Е, биотин. Также известно, что олигонуклеотиды, содержащие ряд фосфоротиоатных связей, связываются с белком сыворотки, и, таким образом, короткие олигонуклеотиды, например, олигонуклеотиды приблизительно из 5, 10, 15 или 20 оснований, содержащие несколько фосфоротиоатных связей в основной цепи, также являются пригодными в настоящем изобретении в качестве лигандов (например, в качестве лигандов, модулирующих ФК). Кроме того, аптамеры, которые связывают компоненты сыворотки (например, белки сыворотки), также подходят для применения в качестве лигандов, модулирующих фармакокинетику, в вариантах осуществления, описанных в настоящем изобретении.

иРНК по изобретению, конъюгированные с лигандом, могут быть синтезированы с использованием олигонуклеотида, который несет дополнительную реактивную функциональность, например, возникающую в результате присоединения связывающей молекулы к олигонуклеотиду (описано ниже). Этот реакционноспособный олигонуклеотид может вступать в реакцию непосредственно с коммерчески доступными лигандами, лигандами, синтезированными с любой из множества защитных групп, или лигандами, к которым присоединен связывающий фрагмент.

Олигонуклеотиды, используемые в конъюгатах по настоящему изобретению, могут быть легко и рутинно получены с помощью хорошо известного метода твердофазного синтеза. Оборудование для такого синтеза продается несколькими поставщиками, включая, например, Applied Biosystems® (Foster City, Calif.). Любые другие способы такого синтеза, известные в данной области техники, могут быть использованы дополнительно или альтернативно. Также известно использование аналогичных методов для получения других олигонуклеотидов, таких как фосфоротиоаты и алкилированные производные.

В лиганд-конъюгированных иРНК и лиганд-молекулах, несущих специфичные по последовательности связанные нуклеозиды по настоящему изобретению, олигонуклеотиды и олигонуклеозиды могут быть собраны на подходящем ДНК-синтезаторе с использованием стандартных предшественников нуклеотидов или нуклеозидов, или предшественников нуклеотидов или нуклеозидных конъюгатов, уже несущих связывающий фрагмент, или предшественников лиганд-нуклеотидов или

нуклеозид-конъюгатов, уже несущих молекулу лиганда, или строительных блоков, несущих не-нуклеозидный лиганд.

При использовании предшественников нуклеотидных конъюгатов, которые уже несут связывающий фрагмент, синтез связанных нуклеозидов, специфичных для последовательности, обычно завершается, и затем молекула лиганда реагирует со связывающим фрагментом с образованием олигонуклеотида, конъюгированного с лигандом. В некоторых вариантах осуществления олигонуклеотида или связанные нуклеозиды по настоящему изобретению синтезируются автоматическим синтезатором с использованием фосфорамидитов, происходящих из конъюгатов лиганд-нуклеозид, в дополнение к стандартным фосфорамидитам и нестандартным фосфорамидитам, которые являются коммерчески доступными и обычно используются в синтезе олигонуклеотидов.

#### *А. Липидные конъюгаты*

В некоторых вариантах осуществления лиганд или конъюгат представляет собой липид или молекулу на основе липида. Такой липид или молекула на основе липида предпочтительно связывается с белком сыворотки, например, сывороточным альбумином человека (HSA). Лиганд, связывающий HSA, обеспечивает распределение конъюгата в ткани-мишени, например, в ткани-мишени, отличной от почки. Например, тканью-мишенью может быть печень, включая паренхиматозные клетки печени. Другие молекулы, способные связывать HSA, также могут быть использованы в качестве лигандов. Например, можно использовать напроксен или аспирин. Липид или лиганд на основе липида может (а) повышать устойчивость конъюгата к деградации, (б) усиливать нацеливание или транспорт в клетку-мишень или клеточную мембрану или (с) может быть использован для регулирования связывания с белком сыворотки, например, ХСА.

Лиганд на основе липида можно использовать для ингибирования, например, для контроля связывания конъюгата с тканью-мишенью. Например, липид или лиганд на основе липида, который сильнее связывается с HSA, с меньшей вероятностью будет нацелен на почки и, следовательно, с меньшей вероятностью будет выведен из организма. Липид или лиганд на основе липида, который менее сильно связывается с HSA, может быть использован для нацеливания конъюгата на почки.

В некоторых вариантах осуществления лиганд на основе липида связывает HSA. Предпочтительно такой лиганд связывает HSA с достаточной аффинностью, так что конъюгат предпочтительно распределяется в тканях, не относящихся к почкам. Однако предпочтительно, чтобы аффинность не была настолько сильной, чтобы связывание HSA-лиганда не было необратимым.

В других вариантах осуществления лиганд на основе липида слабо связывает HSA или вообще не связывает таковой, так что конъюгат будет предпочтительно распределяться в почках. Вместо лиганда на липидной основе или в дополнение к нему можно использовать и другие фрагменты, нацеленные на клетки почек.

В другом аспекте лиганд представляет собой фрагмент, например, витамин, который поглощается клеткой-мишенью, например, пролиферирующей клеткой. Такие



лиганды особенно полезны для лечения нарушений, характеризующихся нежелательной клеточной пролиферацией, например, злокачественного или незлокачественного типа, например, раковых клеток. Типичные витамины включают витамин А, Е и К. Другие иллюстративные витамины включают витамин В, например, фолиевую кислоту, В12, рибофлавин, биотин, пиридоксаль или другие витамины или питательные вещества, поглощаемые клетками-мишенями, такими как клетки печени. Также сюда включены HSA и липопротеины низкой плотности (LDL).

### *В. Агенты проникновения в клетки*

В другом аспекте лиганд представляет собой агент для проникновения в клетку, предпочтительно спиральный агент для проникновения в клетку. Предпочтительно агент является амфипатическим. Типичным агентом является пептид, такой как tat-пептид или пептид антеннопедия. Если агент представляет собой пептид, он можно быть модифицирован разными способами, включая пептидилмиметик, инвертомеры, непептидные или псевдопептидные связи и использование D-аминокислот. Спиральный агент предпочтительно представляет собой альфа-спиральный агент, который предпочтительно имеет липофильную и липофобную фазы.

Лиганд может представлять собой пептид или пептидомиметик. Пептидомиметик (также называемый здесь олигопептидомиметик) представляет собой молекулу, способную складываться в определенную трехмерную структуру, подобную природному пептиду. Присоединение пептидов и пептидомиметиков к иРНК агентам может влиять на фармакокинетическое распределение иРНК, например, за счет усиления клеточного распознавания и абсорбции. Пептид или пептидомиметический фрагмент может иметь длину приблизительно 5-50 аминокислот, например, приблизительно 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 или 50 аминокислот.

Пептид или пептидомиметик может быть, например, проникающим в клетку пептидом, катионным пептидом, амфипатическим пептидом или гидрофобным пептидом (например, состоящим в основном из Tyr, Trp или Phe). Пептидная часть может представлять собой дендримерный пептид, ограниченный пептид или сшитый пептид. В другом варианте пептидный фрагмент может включать транслокационную последовательность гидрофобной мембраны (MTS). Примером гидрофобного MTS-содержащего пептида является RFGF, имеющий аминокислотную последовательность AAVALLPAVLLALLAP (SEQ ID NO: 14). Аналог RFGF (например, аминокислотная последовательность AALLPVLLAAP (SEQ ID NO:15), содержащий гидрофобную MTS, также может служить фрагментом нацеливания. Пептидный фрагмент может быть пептидом «доставки», который может нести большие полярные молекулы, включая пептиды, олигонуклеотиды, и белок, проникающий сквозь клеточные мембраны. Например, было обнаружено, что последовательности HIV белка Tat (GRKKRRQRRPPQ (SEQ ID NO:16) и белка Drosophila Antennapedia (RQIKIWFQNRMKWKK (SEQ ID NO:17)) способны функционировать в качестве пептидов доставки. Пептид или пептидомиметик может кодироваться случайной последовательностью ДНК, например

как пептид, идентифицированный из библиотеки фагового дисплея или комбинаторной библиотеки «одна гранула - одно соединение» (ОВОС) (*Lam et al., Nature, 354:82-84, 1991*). Примеры пептида или пептидомиметика, присоединенного к средству на основе дсРНК через встроенную мономерную единицу для нацеливания на клетку представляет собой аргинин-глицин-аспарагиновую кислоту (RGD)-пептид, или RGD-миметик. Длина пептидной части может варьироваться от приблизительно 5 аминокислот до приблизительно 40 аминокислот. Пептидные фрагменты могут иметь структурную модификацию, например, для повышения стабильности или непосредственных конформационных свойств. Любая из структурных модификаций, описанных ниже, может быть использована.

Пептид RGD для применения в композициях и способах по изобретению может быть линейным или циклическим и может быть модифицирован, например, гликозилирован или метилирован, для облегчения нацеливания на конкретную(ые) ткань(и). RGD-содержащие пептиды и пептидомиметики могут включать D-аминокислоты, а также синтетические RGD-миметики. В дополнение к RGD можно использовать другие фрагменты, нацеленные на лиганд интегрина. Предпочтительные конъюгаты этого лиганда нацелены на PECAM-1 или VEGF.

«Проникающий в клетку пептид» способен проникать в клетку, например, в микробную клетку, такую как бактериальная или грибковая клетка, или в клетку млекопитающего, такую как клетка человека. Пептид, проникающий в микробную клетку, может представлять собой, например,  $\alpha$ -спиральный линейный пептид (например, LL-37 или серопин (Serpin P1)), пептид, содержащий дисульфидную связь (например,  $\alpha$ -дефенсин,  $\beta$ -дефенсин или бактенецин), или пептид, содержащий только одну или две доминирующие аминокислоты (например, PR-39 или индолицидин). Пептид проникновения в клетку может также включать сигнал ядерной локализации (NLS). Например, проникающий в клетку пептид может представлять собой двухкомпонентный амфипатический пептид, такой как MPG, полученный из домена слитого пептида HIV-1 gp41 и NLS большого T-антигена SV40 (*Simeoni et al., Nucl. Acids Res. 31:2717-2724, 2003*).

### *С. Углеводные конъюгаты*

В некоторых вариантах осуществления композиций и способов по изобретению иРНК дополнительно содержит углевод. иРНК, конъюгированная с углеводами, имеет преимущества для доставки *in vivo* нуклеиновых кислот, а также композиций, подходящих для терапевтического применения *in vivo*, как описано в настоящем изобретении. Используемый здесь термин «углевод» относится к соединению, представляющему собой либо углевод сам по себе, состоящий из одного или более моносахаридных звеньев, содержащих по меньшей мере 6 атомов углерода (которые могут быть линейными, разветвленными или циклическими) с атомом(ами) кислорода, азота или серы, связанных с каждым атомом углерода; или соединение, имеющее в качестве своей части углеводный фрагмент, состоящий из одного или более моносахаридных звеньев, каждое из которых имеет по меньшей мере шесть атомов углерода (которые могут быть линейными,

разветвленными или циклическими), где каждый атом углерода связан с атомом кислорода, азота или серы. Типичные углеводы включают сахара (моно-, ди-, три- и олигосахариды, содержащие приблизительно 4, 5, 6, 7, 8 или 9 моносахаридных звеньев) и полисахариды, такие как крахмалы, гликоген, целлюлоза и полисахаридные камеди. Конкретные моносахариды включают сахара C5 и выше (например, C5, C6, C7 или C8); ди- и трисахариды включают сахара, имеющие две или три моносахаридные единицы (например, C5, C6, C7 или C8).

В некоторых вариантах осуществления углеводный конъюгат для применения в композициях и способах по изобретению представляет собой моносахарид.

В некоторых вариантах осуществления моносахарид представляет собой N-ацетилгалактозамин (GalNAc). Конъюгаты GalNAc, содержащие одно или более производных N-ацетилгалактозамина (GalNAc), описаны, например, в патенте США 8106022, полное содержание которого включено в настоящее описание в качестве ссылки. В некоторых вариантах осуществления конъюгат GalNAc служит лигандом, направляющим иРНК к конкретным клеткам. В некоторых вариантах осуществления изобретения конъюгат GalNAc нацеливает иРНК на клетки печени, например, функционируя в качестве лиганда для асиалогликопротеинового рецептора клеток печени (например, гепатоцитов).

В некоторых вариантах осуществления углеводный конъюгат содержит одно или более производных GalNAc. Производные GalNAc могут быть присоединены через линкер, например, двухвалентный или трехвалентный разветвленный линкер. В некоторых вариантах осуществления конъюгат GalNAc конъюгирован с 3'-концом смысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления конъюгат GalNAc конъюгирован с агентом иРНК (например, с 3'-концом смысловой цепи) через линкер, например, линкер, описанный в настоящем изобретении. В некоторых вариантах осуществления конъюгат GalNAc конъюгирован с 5'-концом смысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления конъюгат GalNAc конъюгирован с агентом иРНК (например, с 5'-концом смысловой цепи) через линкер, например, линкер, описанный в настоящем изобретении.

В некоторых вариантах осуществления изобретения GalNAc или производное GalNAc присоединены к иРНК агенту по изобретению через моновалентный линкер. В некоторых вариантах осуществления GalNAc или производное GalNAc присоединены к иРНК агенту по изобретению через двухвалентный линкер. В других вариантах осуществления изобретения GalNAc или производное GalNAc присоединены к иРНК агенту по изобретению через трехвалентный линкер. В других вариантах осуществления изобретения GalNAc или производное GalNAc присоединены к иРНК агенту по изобретению через четырехвалентный линкер.

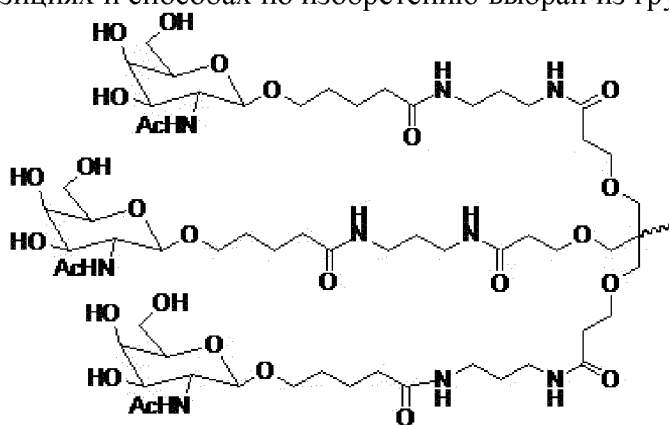
В некоторых вариантах осуществления двухцепочечной иРНК агент по изобретению содержат один GalNAc или производное GalNAc, присоединенное к средству иРНК. В некоторых вариантах осуществления двухцепочечной иРНК агент по изобретению содержат множество (например, 2, 3, 4, 5 или 6) GalNAc или производных

GalNAc, каждое из которых независимо присоединено к множеству нуклеотидов двухцепочечному иРНК агенту через множество моновалентных линкеров.

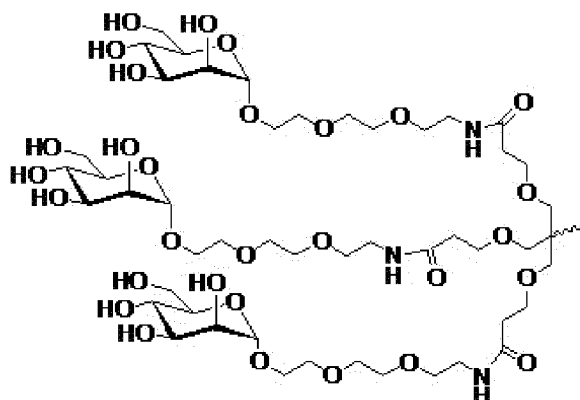
В некоторых вариантах осуществления, например, когда две цепи иРНК агента по изобретению являются частью одной большей молекулы, соединенной непрерывной цепью нуклеотидов между 3'-концом одной цепи и 5'-концом соответствующей другой цепи с образованием петли-шпильки, содержащей множество неспаренных нуклеотидов, каждый неспаренный нуклеотид в петле-шпильке может независимо содержать GalNAc или производное GalNAc, присоединенное через моновалентный линкер. Петля-шпилька также может быть образована удлиненным выступом одной цепи дуплекса.

В некоторых вариантах осуществления, например, когда две цепи иРНК агента по изобретению являются частью одной большей молекулы, соединенной непрерывной цепью нуклеотидов между 3'-концом одной цепи и 5'-концом соответствующей другой цепи с образованием петли-шпильки, содержащей множество неспаренных нуклеотидов, каждый неспаренный нуклеотид в петле-шпильке может независимо содержать GalNAc или производное GalNAc, присоединенное через моновалентный линкер. Петля-шпилька также может быть образована удлиненным выступом одной цепи дуплекса.

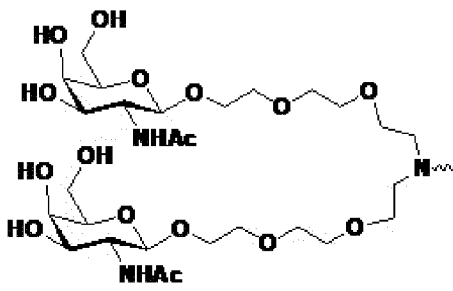
В одном варианте осуществления углеводный конъюгат для применения в композициях и способах по изобретению выбран из группы, состоящей из:



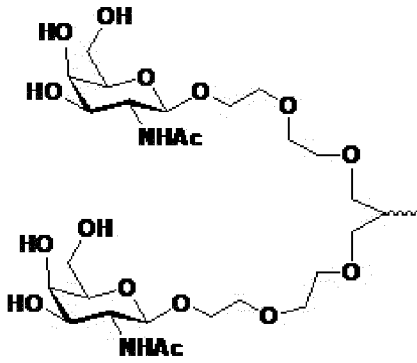
Формула II,



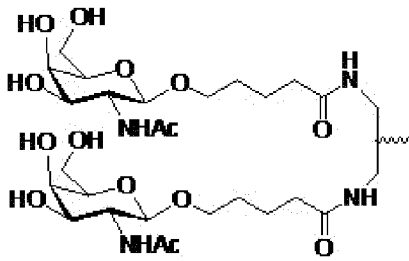
Формула III,



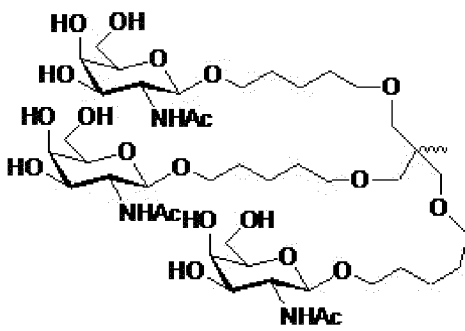
Формула IV,



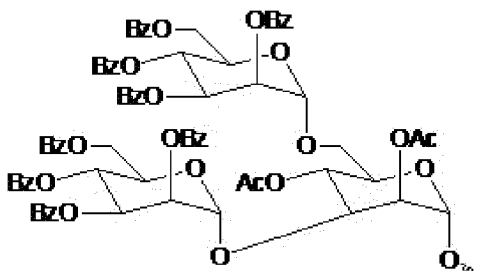
Формула V,



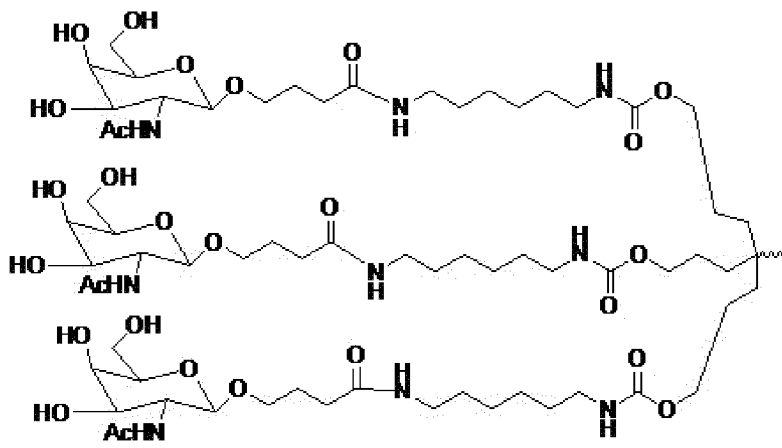
Формула VI,



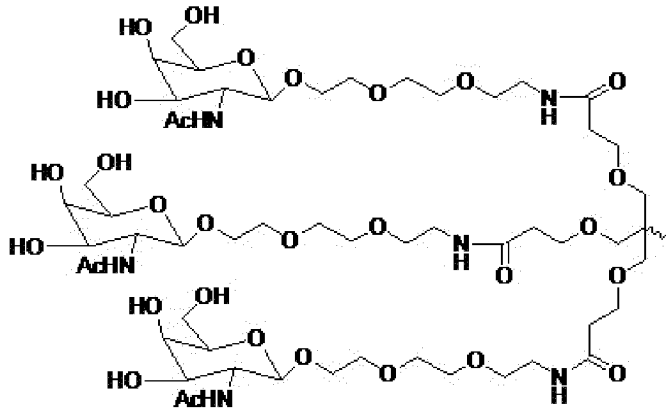
Формула VII,



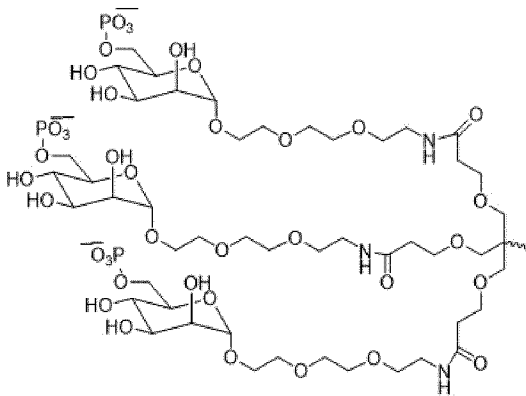
Формула VIII,



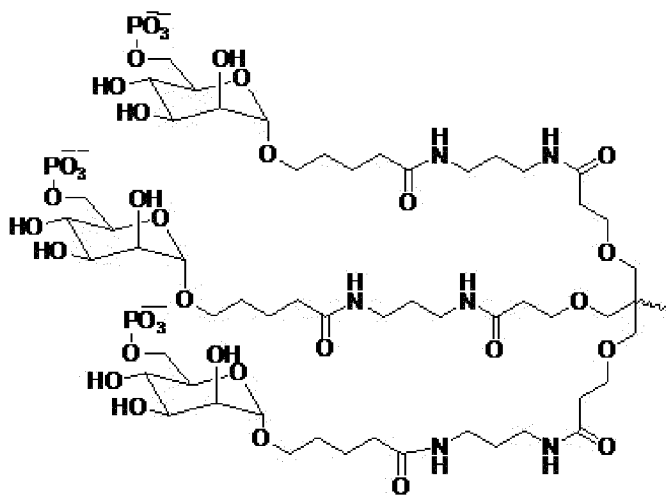
Формула IX,



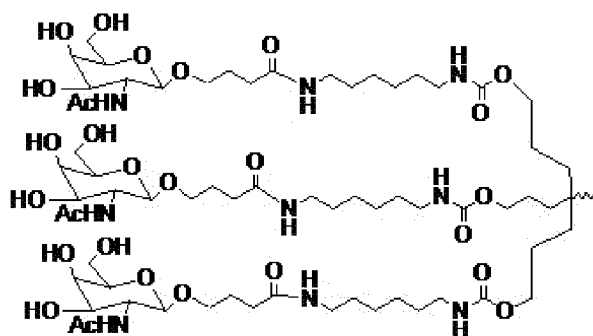
Формула X,



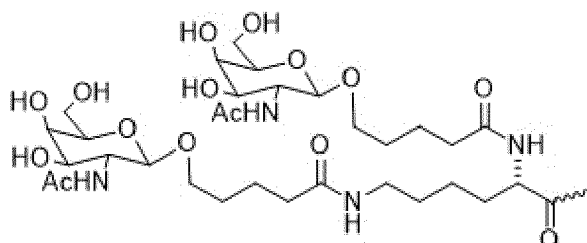
Формула XI,



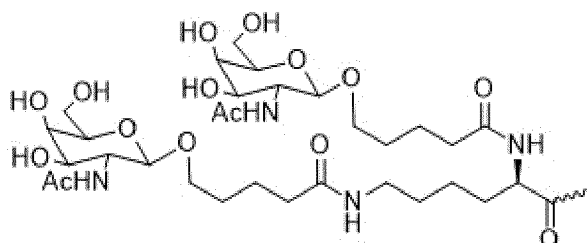
Формула XII,



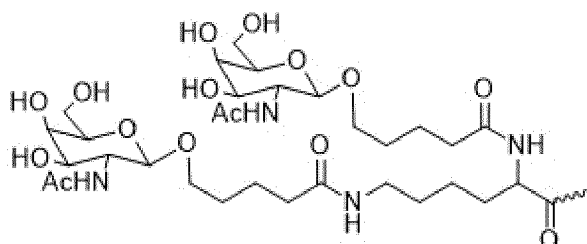
Формула XIII,



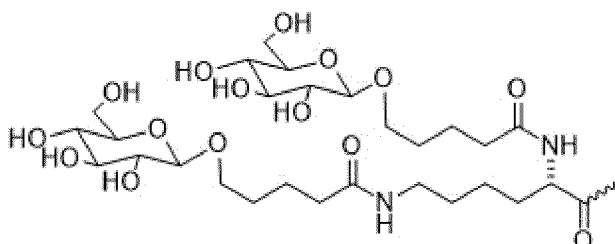
Формула XIV,



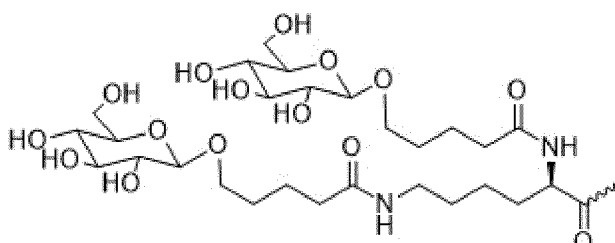
Формула XV,



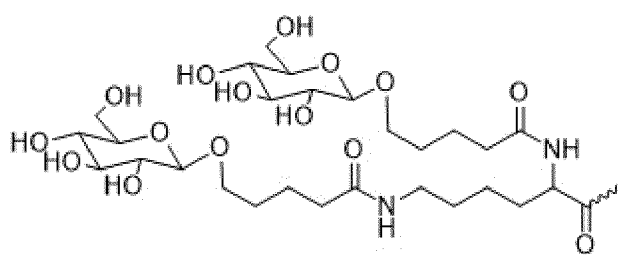
Формула XVI,



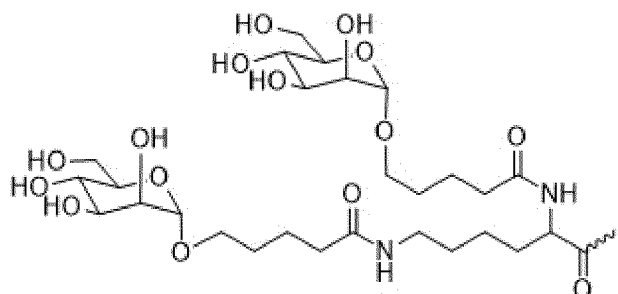
Формула XVII,



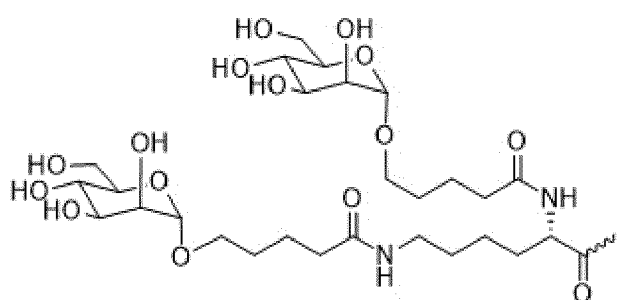
Формула XVIII,



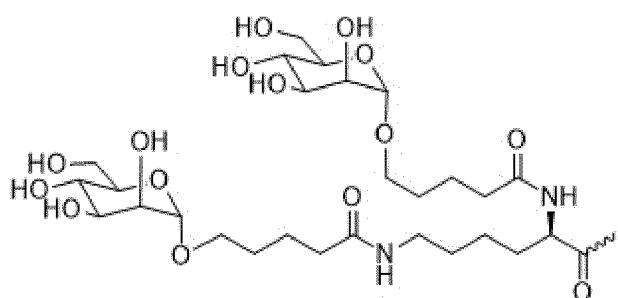
Формула XIX,



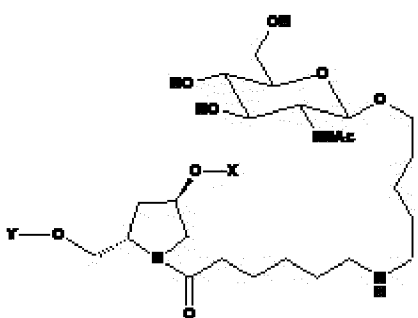
Формула XX,



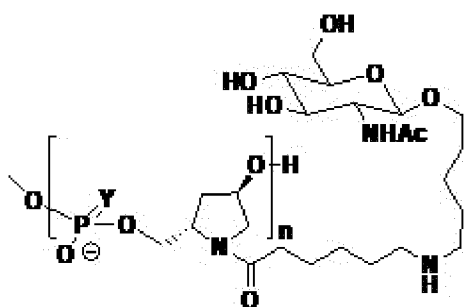
Формула XXI,



Формула XXII,



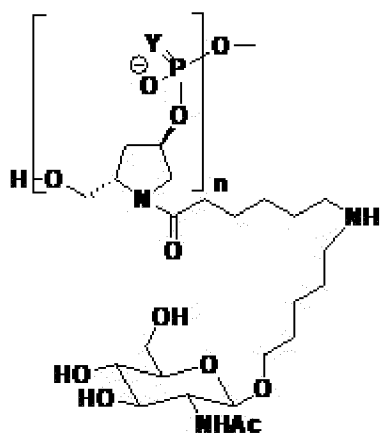
Формула XXIII;



, где Y представляет собой O или S и n равно 3-6

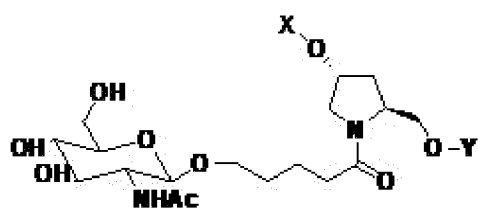
(формула XXIV);



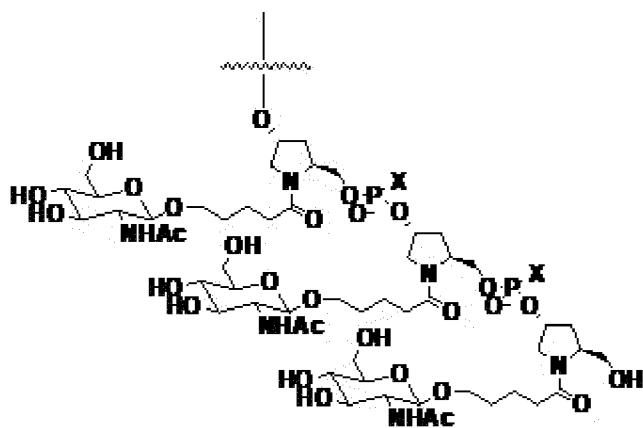


3-6 (формула XXV);

, где Y представляет собой O или S и n имеет значение

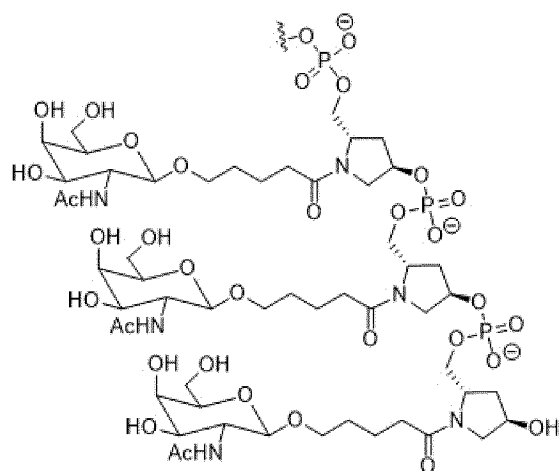
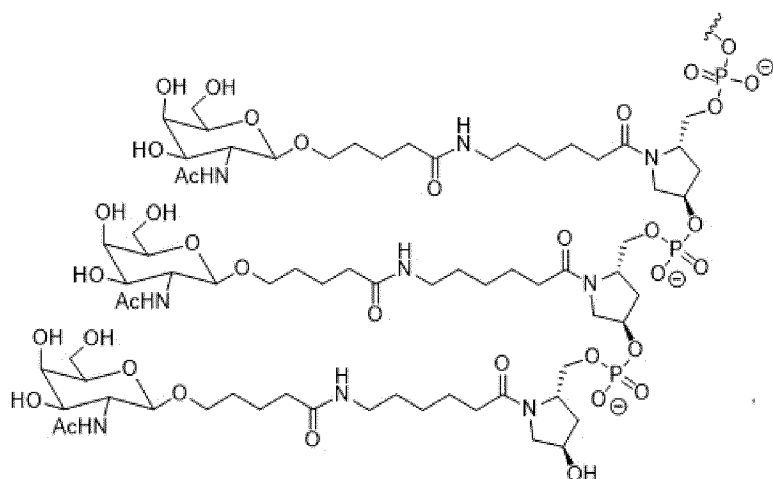


Формула XXVI;



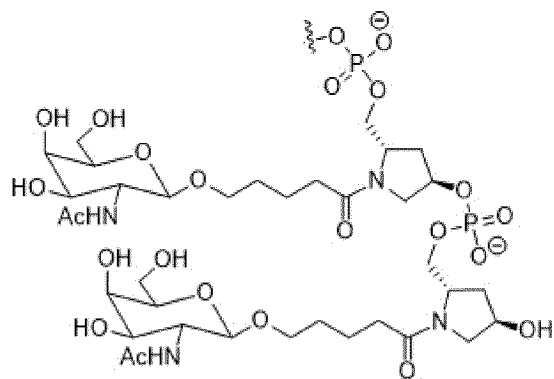
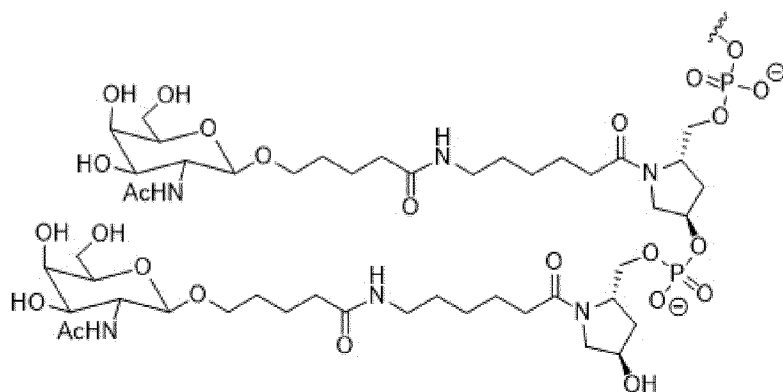
(формула XXVII);

, где X представляет собой O или S



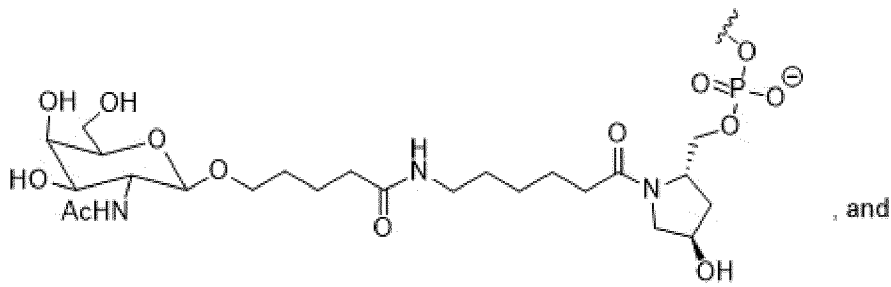
Формула XXVII и

Формула XXIX;

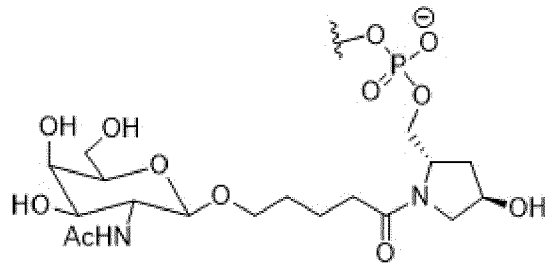


Формула XXX и

Формула XXXI;

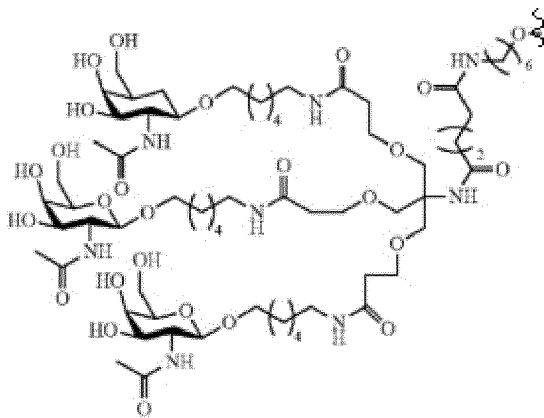


, and



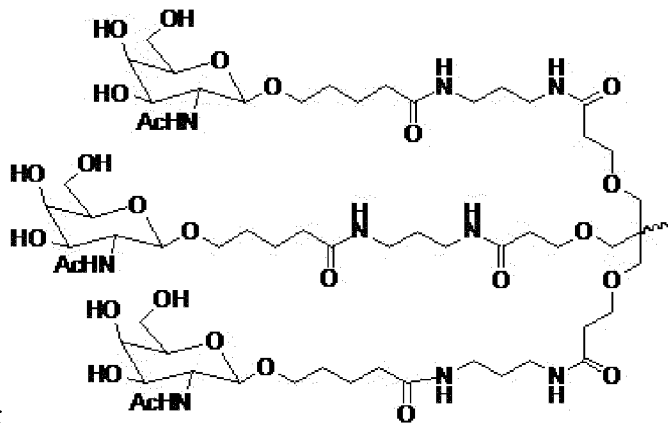
Формула XXXII и

Формула XXXIII;



Формула XXXIV.

В другом варианте осуществления углеводный конъюгат для применения в композициях и способах по изобретению представляет собой моносахарид. В одном варианте осуществления моносахарид представляет собой N-ацетилгалактозамин, такой

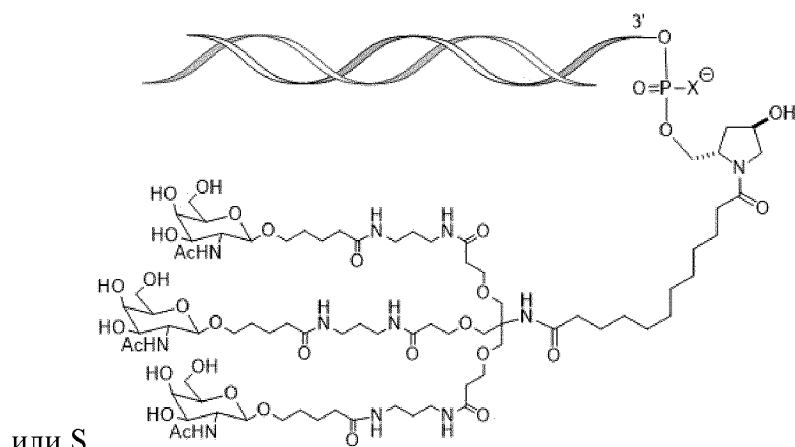


как

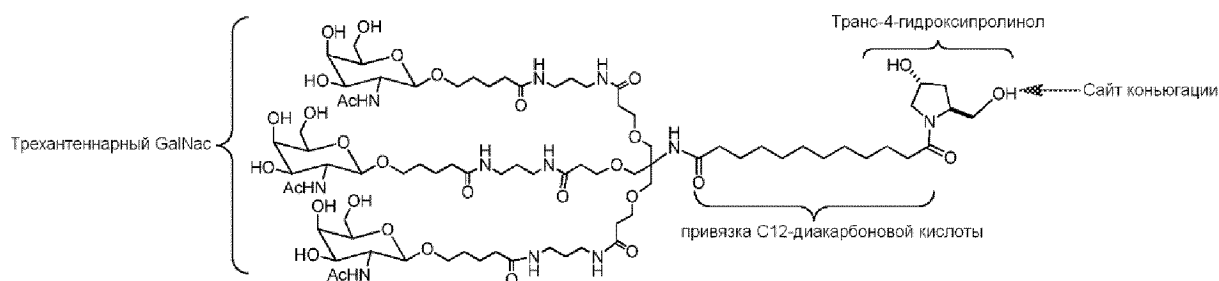
Формула 2.

В некоторых вариантах осуществления РНКи агент присоединен к углеводному

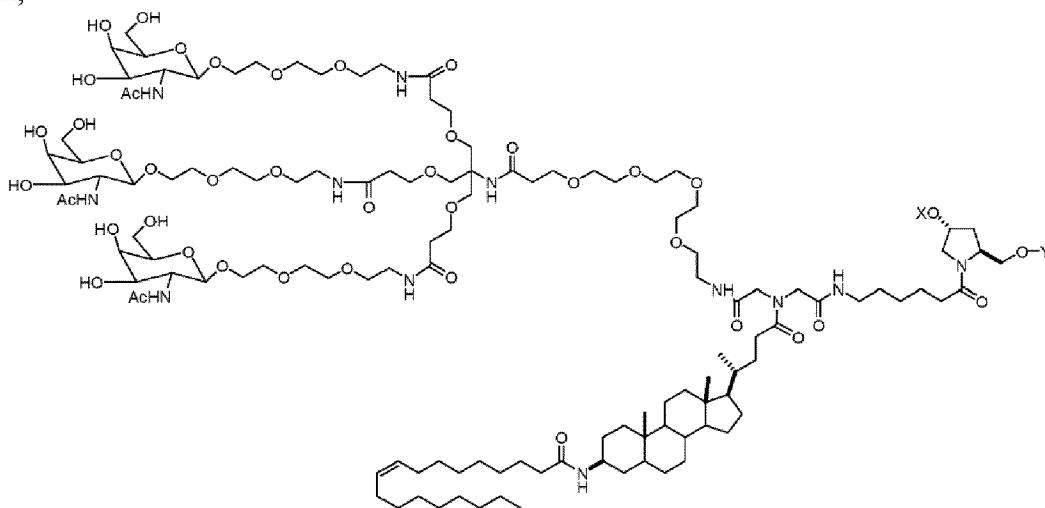
конъюгату через линкер, как показано на следующей схеме, где X представляет собой O



В некоторых вариантах осуществления РНКи агент конъюгирован с L96, как обозначено в Таблице 1 и показано ниже:



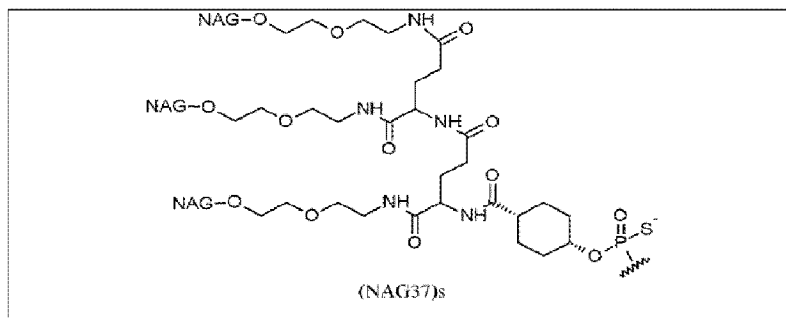
Другой репрезентативный углеводный конъюгат для применения в вариантах осуществления, описанных в настоящем изобретении, включает, без ограничения таковым,



(Формула XXXVI), где один из X или Y представляет собой олигонуклеотид, а другой представляет собой водород.

В некоторых вариантах осуществления подходящий лиганд представляет собой лиганд, раскрытый в WO 2019/055633, полное содержание которого включено в настоящее описание в качестве ссылки. В одном варианте осуществления лиганд имеет

следующую структуру:



В некоторых вариантах осуществления изобретения GalNAc или производное GalNAc присоединены к иРНК агенту по изобретению через моновалентный линкер. В некоторых вариантах осуществления GalNAc или производное GalNAc присоединены к иРНК агенту по изобретению через двухвалентный линкер. В других вариантах осуществления изобретения GalNAc или производное GalNAc присоединены к иРНК агенту по изобретению через трехвалентный линкер.

В одном варианте осуществления двухцепочечные иРНК агенты по изобретению содержат один или более GalNAc или производных GalNAc, присоединенных к иРНК агенту. GalNAc может быть присоединен через линкер к любому нуклеотиду смысловой цепи или антисмысловой цепи. GalNAc может быть присоединен к 5'-концу смысловой цепи, 3'-концу смысловой цепи, 5'-концу антисмысловой цепи или 3'-концу антисмысловой цепи. В одном варианте осуществления GalNAc присоединен к 3'-концу смысловой цепи, например, через трехвалентный линкер.

В других вариантах осуществления двухцепочечные иРНК агенты по изобретению содержат множество (например, 2, 3, 4, 5 или 6) GalNAc или производных GalNAc, каждый(ое) из которых независимо присоединено к множеству нуклеотидов двухцепочечных иРНК агентов через множество линкеров, например моновалентных линкеров.

В некоторых вариантах осуществления, например, когда две цепи иРНК агента по изобретению являются частью одной большей молекулы, соединенной непрерывной цепью нуклеотидов между 3'-концом одной цепи и 5'-концом соответствующей другой цепи с образованием петли-шпильки, содержащей множество неспаренных нуклеотидов, каждый неспаренный нуклеотид в петле-шпильке может независимо содержать GalNAc или производное GalNAc, присоединенное через моновалентный линкер.

В некоторых вариантах осуществления углеводный конъюгат дополнительно содержит один или более дополнительных лигандов, как описано выше, таких как, модулятор ПК или проникающий в клетку пептид, без ограничения таковыми.

Дополнительные углеводные конъюгаты и линкеры, пригодные для использования в настоящем изобретении включают те, что описаны в публикациях РСТ №№ WO 2014/179620 и WO 2014/179627, полное содержание каждой из которых включено в настоящее описание посредством ссылки.

### *D. Линкеры*

В некоторых вариантах осуществления описанный здесь конъюгат или лиганд может быть присоединен к иРНК олигонуклеотиду с помощью различных линкеров, которые могут быть расщепляемыми или нерасщепляемыми.

Термин «линкер» или «связывающая группа» означает органический фрагмент, который соединяет две части соединения, например, ковалентно связывает две части соединения. Линкеры обычно содержат прямую связь или атом, такой как кислород или сера, звено, такое как NR<sub>8</sub>, C(O), C(O)NH, SO, SO<sub>2</sub>, SO<sub>2</sub>NH, или цепь атомов, например такую как (без ограничения таковыми): замещенный или незамещенный алкил, замещенный или незамещенный алкенил, замещенный или незамещенный алкинил, арилалкил, арилалкенил, арилалкинил, гетероарилалкил, гетероарилалкенил, гетероарилалкинил, гетероциклилалкил, гетероциклилалкенил, гетероциклилалкинил, арил, гетероарил, гетероциклил, циклоалкил, циклоалкенил, алкиларилалкил, алкиларилалкенил, алкиларилалкинил, алкениларилалкил, алкениларилалкенил, алкениларилалкинил, алкиниларилалкил, алкиниларилалкенил, алкиниларилалкинил, алкилгетероарилалкил, алкилгетероарилалкенил, алкилгетероарилалкинил, алкенилгетероарилалкил, алкенилгетероарилалкенил, алкенилгетероарилалкинил, алкинилгетероарилалкил, алкинилгетероарилалкенил, алкинилгетероарилалкинил, алкилгетероциклилалкил, алкилгетероциклилалкенил, алкилгетероциклилалкинил, алкенилгетероциклилалкил, алкенилгетероциклилалкенил, алкенилгетероциклилалкинил, алкинилгетероциклилалкил, алкинилгетероциклилалкенил, алкинилгетероциклилалкинил, алкиларил, алкениларил, алкиниларил, алкилгетероарил, алкенилгетероарил, алкинилгетероарил, в которых один или более метиленов могут быть прерваны или оканчиваются атомом O, C(R), N, S, S, (O), замещенным или незамещенным арилом, замещенным или незамещенным гетероарилом, или замещенным или незамещенным гетероциклом; где R<sub>8</sub> представляет собой водород, ацил, алифатическую или замещенную алифатическую группу. В одном варианте осуществления линкер составляет приблизительно 1-24 атома, 2-24, 3-24, 4-24, 5-24, 6-24, 6-18, 7-18, 8-18, 7-17, или 8-16 атомов.

Расщепляемая линкерная группа является достаточно стабильной вне клетки, но при попадании в клетку-мишень расщепляется с высвобождением двух частей, удерживаемых вместе линкером. В предпочтительном варианте осуществления расщепляемая связующая группа расщепляется по меньшей мере приблизительно в 10 раз, 20 раз, 30 раз, 40 раз, 50 раз, 60 раз, 70 раз, 80 раз, 90 раз или более или по меньшей мере 100 раз быстрее в клетке-мишени или при первом контрольном условии (которое может, например, быть выбрано для имитации внутриклеточных условий представляет условия, обнаруженные к клетке), чем в крови субъекта, или при втором контрольном условии (которое может, например, быть выбрано для имитации или представляет условия, обнаруженные в крови или сыворотке).

Расщепляемые линкерные группы чувствительны к расщепляющим агентам,

например, рН, окислительно-восстановительному потенциалу или присутствию разрушающих молекул. Как правило, расщепляющие агенты более распространены или обнаруживаются на более высоких уровнях или более активны внутри клетки, чем в сыворотке или крови. Примеры таких расщепляющих агентов включают: окислительно-восстановительные агенты, выбранные для конкретных субстратов или, наоборот, не обладающих субстратной специфичностью, включая, например, окислительные или восстановительные ферменты или восстановительные агенты, такие как меркаптаны, присутствующие в клетках, способные разрушать редокс-расщепляемую связующую группу при восстановлении; эстеразы; эндосомы или агенты, способные создавать кислую среду, например, такие, которые приводят к рН, равному пяти или ниже; ферменты, способные гидролизовать или расщеплять расщепляемую кислотой связующую группу, действуя как стандартная кислота, пептидазы (которые могут быть субстрат-специфичными) и фосфатазы.

Расщепляемая связующая группа, такая как дисульфидная связь, может быть чувствительна к рН. рН сыворотки человека составляет 7,4, в то время как средний внутриклеточный рН немного ниже и колеблется приблизительно в пределах 7,1-7,3. Эндосомы имеют более кислый рН в диапазоне 5,5-6,0, а лизосомы имеют еще более кислый рН около 5,0. Некоторые линкеры будут иметь расщепляемую линкерную группу, которая расщепляется при предпочтительном рН с образованием катионного липида из лиганда внутри клетки или в нужном компартменте клетки.

Линкер может включать расщепляемую линкерную группу, расщепляемую конкретным ферментом. Тип расщепляемой линкерной группы, включенной в линкер, может зависеть от целевой клетки. Например, лиганд, нацеленный на печень, может быть связан с катионным липидом через линкер, включающим сложноэфирную группу. Клетки печени богаты эстеразами, поэтому линкер расщепляется более эффективно в клетках печени, чем в типах клеток с меньшим количеством эстераз. Другие типы клеток, богатые эстеразами, включают клетки легких, коры почек и яичек.

Линкеры, содержащие пептидные связи, могут быть использованы для нацеливания на типы клеток, богатые пептидазами, такие как клетки печени и синовиоциты.

Как правило, пригодность расщепляемой линкерной группы-кандидата можно оценить, проверив способность агента деградации (или условия) расщеплять связывающую группу-кандидат. Также будет желательно также протестировать расщепляемую связывающую группу-кандидат на способность сопротивляться расщеплению в крови или при контакте с другой тканью, не являющейся мишенью. Таким образом, можно определить относительную восприимчивость к расщеплению между первым и вторым условиями, где первое выбрано как показатель расщепления в клетке-мишени, а второе выбрано как показатель расщепления в других тканях или биологических жидкостях, например, в крови или сыворотке. Оценки можно проводить в бесклеточных системах, в клетках, в культуре клеток, в культуре органов или тканей или

на животных. Может оказаться полезным провести первоначальные оценки в бесклеточных системах или культуре клеток и подтвердить дальнейшими оценками на живых животных. В предпочтительных вариантах осуществления полезные соединения-кандидаты расщепляются в клетке (или в условиях *in vitro*, выбранных для имитации внутриклеточных условий) в значительной степени по сравнению с расщеплением в крови или сыворотке (или в условиях *in vitro*, выбранных для имитации внеклеточных условий).

*i. Окислительно-восстановительные расщепляемые связывающие группы*

В некоторых вариантах осуществления расщепляемая линкерная группа представляет собой расщепляемую окислительно-восстановительную линкерную группу, которая расщепляется при восстановлении или окислении. Примером восстановительно расщепляемой линкерной группы является дисульфидная линкерная группа (-S-S-). Чтобы определить, является ли потенциальная расщепляемая линкерная группа подходящей «восстановительно-расщепляемой линкерной группой» или, например, подходящей для использования с конкретной частью иРНК и конкретным нацеливающим агентом, можно обратиться к методам, описанным в настоящем изобретении. Например, кандидата можно оценить путем инкубации с дитиотреитолом (DTT) или другим восстанавливающим агентом с использованием реагентов, известных в данной области техники, которые имитируют скорость расщепления, наблюдаемую в клетке, например, клетке-мишени. Кандидаты также могут быть оценены в условиях, выбранных с целью имитации условий крови или сыворотки. В таком случае соединения-кандидаты расщепляются не более чем на 10% в крови. В других вариантах осуществления полезные соединения-кандидаты расщепляются в клетке (или в условиях *in vitro*, выбранных для имитации внутриклеточных условий) по меньшей мере приблизительно в 2, 4, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, или 100 раз быстрее по сравнению с расщеплением в крови (или в условиях *in vitro*, выбранных для имитации внеклеточных условий). Скорость расщепления соединений-кандидатов можно определить с помощью стандартных методов анализа ферментативной кинетики в условиях, выбранных для имитации внутриклеточной среды, и сравнить с расщеплением в условиях, выбранных для имитации внеклеточной среды.

*II. Расщепляемые линкерные группы на основе фосфатов*

В других вариантах осуществления расщепляемый линкер содержит расщепляемую линкерную группу на основе фосфата. Расщепляемая линкерная группа на основе фосфата расщепляется агентами, которые расщепляют или гидролизуют фосфатную группу. Примерами агентов, расщепляющих фосфатные группы в клетках, являются такие ферменты, как фосфатазы в клетках. Примерами линкерных групп на основе фосфата являются -O-P(O)(ORk)-O-, -O-P(S)(ORk)-O-, -O-P(S)(SRk)-O-, -S-P(O)(ORk)-O-, -O-P(O)(ORk)-S-, -S-P(O)(ORk)-S-, -O-P(S)(ORk)-S-, -S-P(S)(ORk)-O-, -O-P(O)(Rk)-O-, -O-P(S)(Rk)-O-, -S-P(O)(Rk)-O-, -S-P(S)(Rk)-O-, -S-P(O)(Rk)-S-, -O-P(S)(Rk)-S. Предпочтительными вариантами осуществления являются -O-P(O)(OH)-O-, -O-P(S)(OH)-O-, -O-P(S)(SH)-O-, -S-P(O)(OH)-O-, -O-P(O)(OH)-S-, -S-P(O)(OH)-S-, -O-



P(S)(OH)-S-, -S-P(S)(OH)-O-, -O-P(O)(H)-O-, -O-P(S)(H)-O-, -S-P(O)(H)-O-, -S-P(S)(H)-O-, -S-P(O)(H)-S-, и -O-P(S)(H)-S-. Предпочтительным вариантом является -O-P(O)(OH)-O-. Эти кандидаты могут быть оценены с использованием методов, аналогичных описанным выше.

### *III. Линкерные группы, расщепляемые кислотой*

В других вариантах осуществления расщепляемый линкер содержит расщепляемую кислотой линкерную группу. Расщепляемая кислотой линкерная группа представляет собой линкерную группу, которая расщепляется в кислых условиях. В предпочтительных вариантах осуществления расщепляемые кислотой линкерные группы расщепляются в кислой среде с рН приблизительно 6,5 или ниже (например, приблизительно 6,0, 5,5, 5,0 или ниже) или с помощью агентов, таких как ферменты, способных действовать как обычная кислота. В клетке специфические органеллы с низким рН, такие как эндосомы и лизосомы, могут обеспечивать расщепляющую среду для расщепляемых кислотой линкерных групп. Примеры расщепляемых кислотой линкерных групп включают, без ограничения таковыми, гидразоны, сложные эфиры и сложные эфиры аминокислот. Кислотные расщепляемые группы могут иметь общую формулу  $-C=NN-$ ,  $C(O)O$  или  $-OC(O)$ . В предпочтительном варианте углерод, присоединенный к кислороду сложного эфира (алкоксигруппа), представляет собой арильную группу, замещенную алкильную группу или третичную алкильную группу, такую как диметилпентил или трет-бутил. Эти кандидаты могут быть оценены с использованием методов, аналогичных описанным выше.

### *IV. Линкерные группы на основе сложных эфиров*

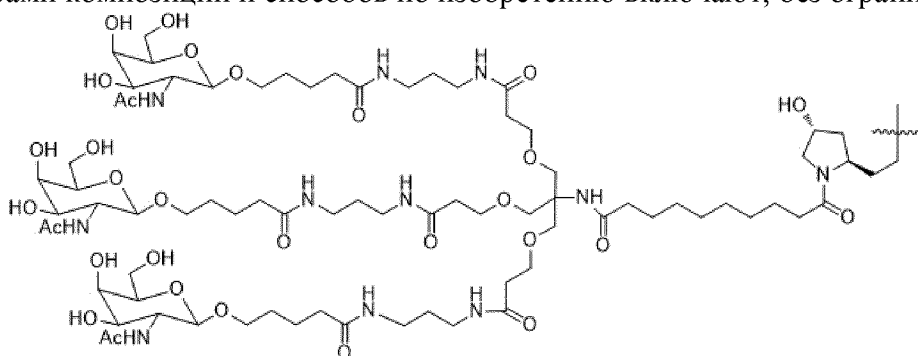
В других вариантах осуществления расщепляемый линкер содержит расщепляемую линкерную группу на основе сложного эфира. Расщепляемая линкерная группа на основе сложного эфира расщепляется в клетках ферментами, такими как эстеразы и амидазы. Примеры расщепляемых линкерных групп на основе сложного эфира включают, без ограничения таковыми, сложные эфиры алкиленовых, алкениленовых и алкиниленовых групп. Расщепляемые сложноэфирные линкерные группы имеют общую формулу  $-C(O)O-$  или  $-OC(O)-$ . Эти кандидаты могут быть оценены с использованием методов, аналогичных описанным выше.

### *v. Расщепляемые группы на основе пептидов*

В других вариантах осуществления расщепляемый линкер содержит расщепляемую линкерную группу на основе пептида. Расщепляемая линкерная группа на основе пептида расщепляется ферментами, такими как пептидазы и протеазы в клетках. Расщепляемые линкерные группы на основе пептидов представляют собой пептидные связи, образованные между аминокислотами с образованием олигопептидов (например, дипептидов, трипептидов и т. д.) и полипептидов. Расщепляемые группы на основе пептидов не включают амидную группу ( $-C(O)NH-$ ). Амидная группа может быть образована между любым алкиленом, алкениленом или алкиниленом. Пептидная связь представляет собой особый тип амидной связи, образующейся между аминокислотами с

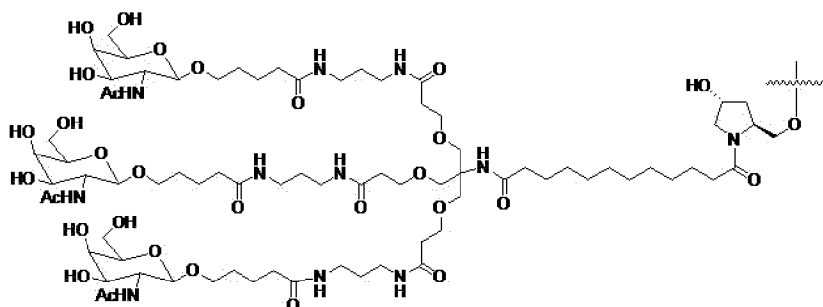
образованием пептидов и белков. Расщепляемая группа на основе пептида обычно ограничивается пептидной связью (т.е. амидной связью), образованной между аминокислотами, формирующими пептиды и белки, и не включает всю амидную функциональную группу целиком. Расщепляемые линкерные группы на основе пептидов имеют общую формулу -NHCHRAC(O)NHCHRBC(O)-, где RA и RB представляют собой R-группы двух соседних аминокислот. Эти кандидаты могут быть оценены при использовании методов, аналогичных описанным выше.

В некоторых вариантах осуществления иРНК по изобретению конъюгирована с углеводом через линкер. Неограничивающие примеры иРНК углеводных конъюгатов с линкерами композиций и способов по изобретению включают, без ограничения таковыми,

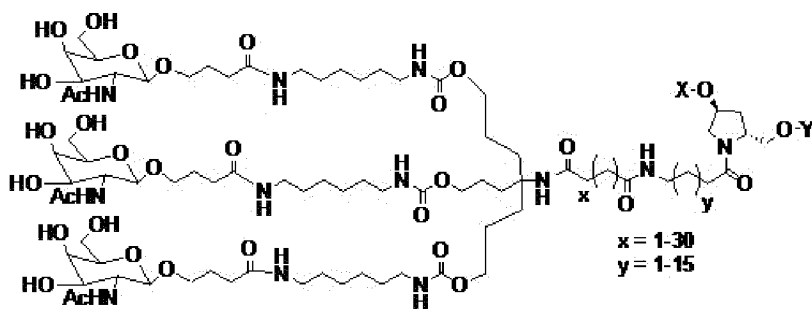


(Формула

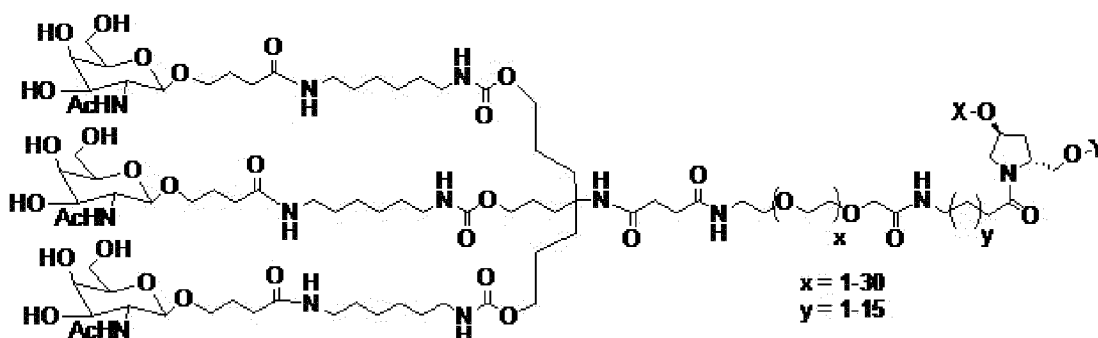
XXXVII),



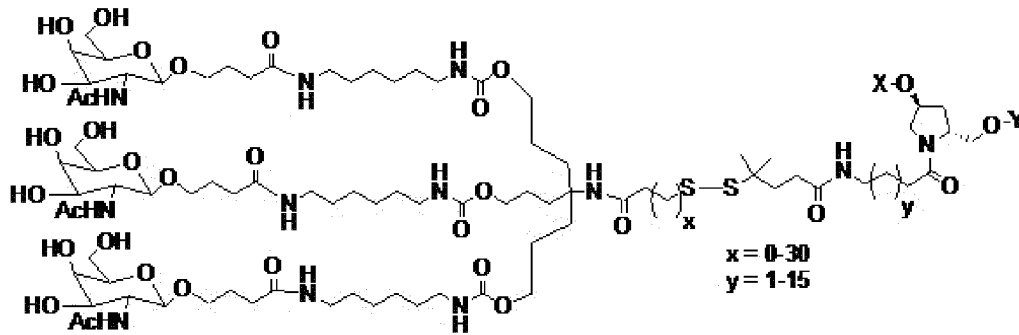
(Формула XXXVIII),



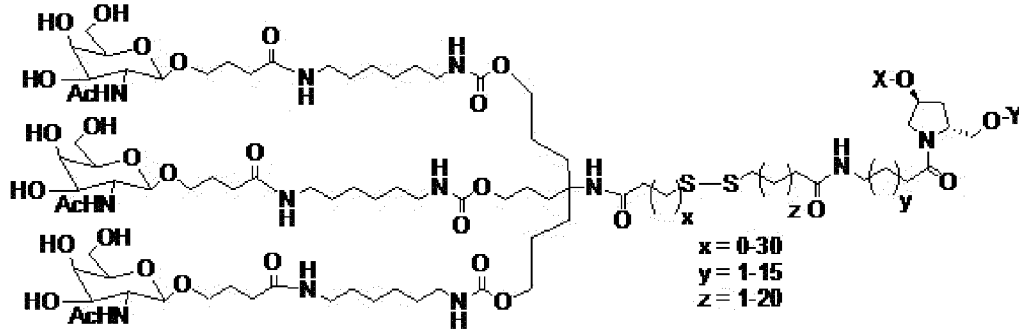
(Формула XXXIX),



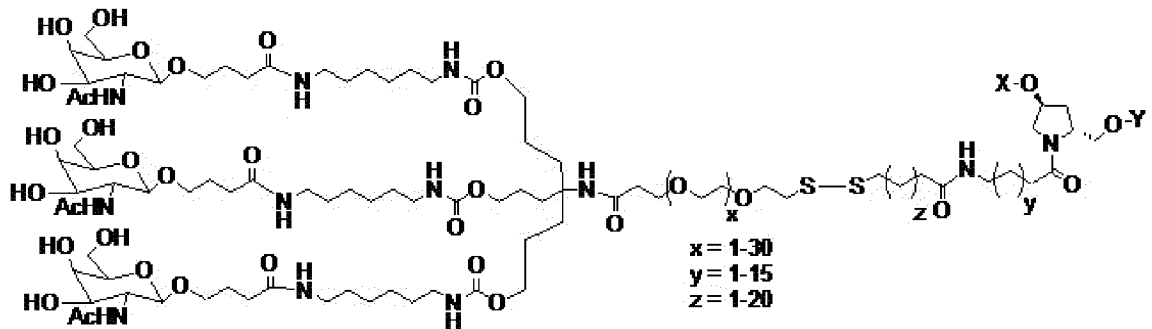
(Формула XL),



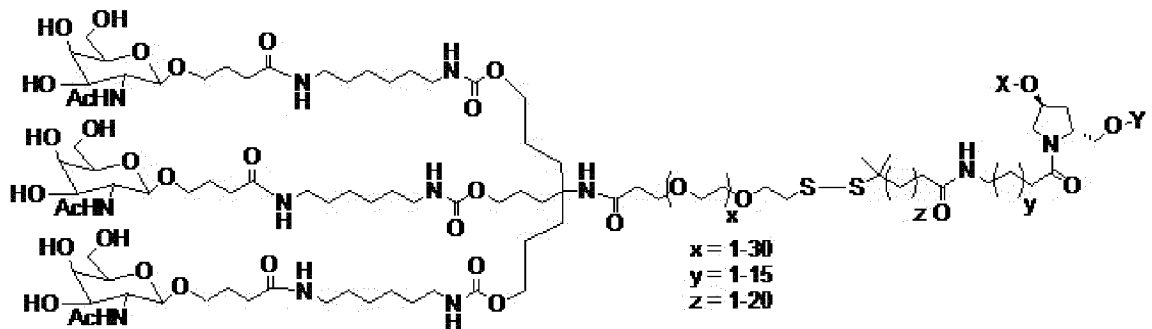
(Формула XLI),



(Формула XLII),



(Формула XLIII) и



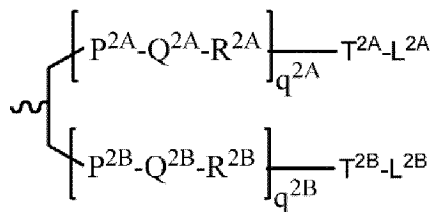
(Формула XLIV), когда один из X или Y представляет собой олигонуклеотид, а другой представляет собой водород.

В некоторых вариантах осуществления композиций и способов по изобретению лиганд представляет собой одно или более производных «GalNAc» (N-ацетилгалактозамина), присоединенных через двухвалентный или трехвалентный разветвленный линкер.

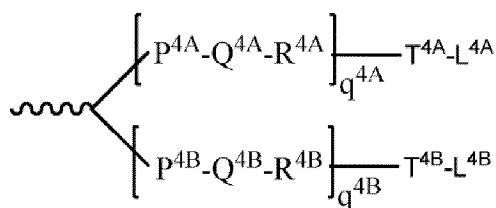
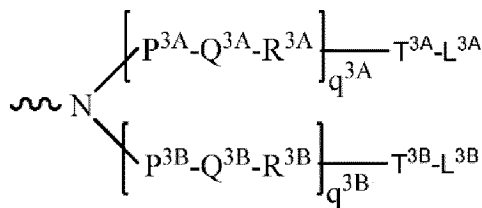
В одном варианте осуществления dsРНК по изобретению конъюгирована с

двухвалентным или трехвалентным разветвленным линкером, выбранным из группы структур, показанных в любой из формул (XLV) - (XLVI):

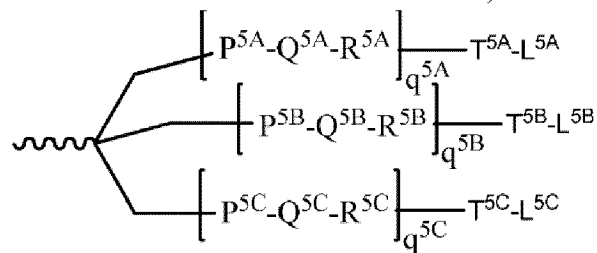
Формула XXXXV



Формула XLVI



Формула (VI)



Формула (VII)

Формула XLVII

Формула XLVIII

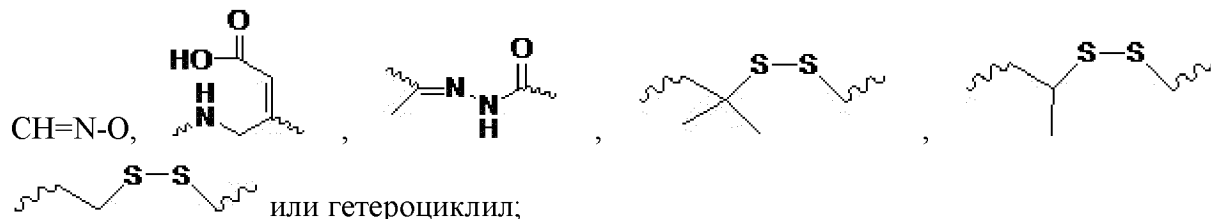
где:

$q^{2A}$ ,  $q^{2B}$ ,  $q^{3A}$ ,  $q^{3B}$ ,  $q^{4A}$ ,  $q^{4B}$ ,  $q^{5A}$ ,  $q^{5B}$  и  $q^{5C}$  независимо для каждого случая представляют собой 0-20, причем повторяющаяся единица может быть одинаковой или разной;

$P^{2A}$ ,  $P^{2B}$ ,  $P^{3A}$ ,  $P^{3B}$ ,  $P^{4A}$ ,  $P^{4B}$ ,  $P^{5A}$ ,  $P^{5B}$ ,  $P^{5C}$ ,  $T^{2A}$ ,  $T^{2B}$ ,  $T^{3A}$ ,  $T^{3B}$ ,  $T^{4A}$ ,  $T^{4B}$ ,  $T^{4A}$ ,  $T^{5B}$ ,  $T^{5C}$  каждый независимо для каждого случая отсутствует, CO, NH, O, S, OC(O), NHC(O), CH<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>NH или CH<sub>2</sub>O;

$Q^{2A}$ ,  $Q^{2B}$ ,  $Q^{3A}$ ,  $Q^{3B}$ ,  $Q^{4A}$ ,  $Q^{4B}$ ,  $Q^{5A}$ ,  $Q^{5B}$ ,  $Q^{5C}$  независимо для каждого случая отсутствуют или представляют собой алкилены, замещенные алкилены, в которых один или более метиленов могут быть прерваны или оканчиваются одним или более из O, S, S(O), SO<sub>2</sub>, N(R<sup>N</sup>), C(R<sup>1</sup>)=C(R<sup>2</sup>), C≡C или C(O);

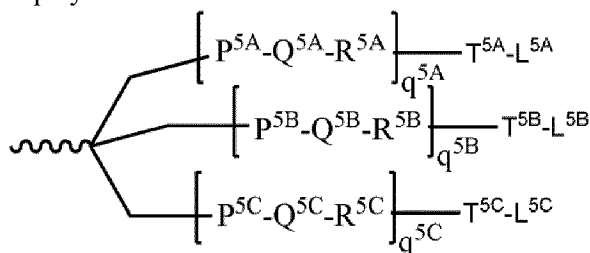
$R^{2A}$ ,  $R^{2B}$ ,  $R^{3A}$ ,  $R^{3B}$ ,  $R^{4A}$ ,  $R^{4B}$ ,  $R^{5A}$ ,  $R^{5B}$ ,  $R^{5C}$  каждый независимо для каждого случая отсутствует, NH, O, S, CH<sub>2</sub>, C(O)O, C(O)NH, NHCH(R<sup>a</sup>)C(O), -C(O)-CH(R<sup>a</sup>)-NH-, CO,



$L^{2A}$ ,  $L^{2B}$ ,  $L^{3A}$ ,  $L^{3B}$ ,  $L^{4A}$ ,  $L^{4B}$ ,  $L^{5A}$ ,  $L^{5B}$  и  $L^{5C}$  представляют собой лиганд; то есть каждый независимо для каждого случая моносахарид (такой как GalNAc), дисахарид, трисахарид, тетрасахарид, олигосахарид или полисахарид; и R<sup>a</sup> представляет собой H или боковую цепь аминокислоты. Трехвалентные конъюгированные производные GalNAc

особенно полезны для использования с РНКи агентами для ингибирования экспрессии гена-мишени, и имеют следующую формулу (XLIX):

Формула XLIX



Формула (VII)

где  $L^{5A}$ ,  $L^{5B}$  и  $L^{5C}$  представляют собой моносахарид, такой как производное GalNAc.

Примеры подходящих двухвалентных и трехвалентных разветвленных линкерных групп, конъюгирующих производные GalNAc, включают, без ограничения таковыми, структуры, приведенные выше в виде формул II, VII, XI, X и XIII.

Репрезентативные патенты США, в которых рассказывается о получении конъюгатов РНК, включают, без ограничения таковыми, патенты США № 4828979; 4948882; 5218105; 5525465; 5541313; 5545730; 5552538; 5578717 5580731; 5591584; 5109124; 5118802; 5138045; 5414077; 5486603; 5512439; 5578718; 5608046; 4587044; 4605735; 4667025; 4762779; 4789737; 4824941; 4835263; 4876335; 4904582; 4958013; 5082830; 5112963; 5214136; 5082830; 5112963; 5214136; 5245022; 5254469; 5258506; 5262536; 5272250; 5292873; 5317098; 5371241 5391723; 5416203 5451463; 5510475; 5512667; 5514785; 5565552; 5567810; 5574142; 5585481; 5587371; 5595726; 5597696; 5599923; 5599928; 5688941; 6294664; 6320017; 6576752; 6783931; 6900297; 7037646; и 8106022, полное содержание каждого из которых настоящим включено в настоящее описание посредством ссылки.

Нет необходимости, чтобы все положения в конкретном соединении были модифицированы одинаково, и по факту более чем одна из вышеупомянутых модификаций может быть включена в отдельное соединение или даже в отдельный нуклеозид внутри иРНК. Настоящее изобретение также включает соединения иРНК, представляющие собой химерные соединения.

«Химерные» соединения иРНК или «химеры» в контексте настоящего изобретения представляют собой соединения иРНК, предпочтительно дсРНКи агенты, содержащие две или более химически различных областей, каждая из которых состоит по меньшей мере из одного мономерного звена, т.е. нуклеотида в случае дсРНК. Эти иРНК обычно содержат по меньшей мере одну область, в которой РНК модифицирована таким образом, чтобы обеспечить иРНК повышенную устойчивость к деградации нуклеазами, повышенное поглощение клетками или повышенную аффинность связывания с нуклеиновой кислотой-мишенью. Дополнительный участок иРНК может служить субстратом для ферментов, способных расщеплять гибриды РНК:ДНК или РНК:РНК. Например, РНКазы H

представляет собой клеточную эндонуклеазу, которая расщепляет цепь РНК дуплекса РНК:ДНК. Таким образом, активация РНКазы H приводит к расщеплению РНК-мишени, которое значительно повышает эффективность иРНК-ингибирования экспрессии генов. Следовательно, сопоставимые результаты часто могут быть получены с более короткими иРНК, если использовать химерные дсРНК вместо фосфоротиоат-дезоксидных дсРНК, гибридизирующихся с той же областью-мишенью. Расщепление РНК-мишени можно обычным образом обнаружить с помощью гель-электрофореза и, при необходимости, с помощью методов гибридизации ассоциированных нуклеиновых кислот, известных в данной области техники.

В некоторых случаях РНК, принадлежащая иРНК, может быть модифицирована нелигандной группой. Ряд нелигандных молекул может быть конъюгирован с иРНК для усиления активности, клеточного распределения или клеточного поглощения иРНК, и процедуры для выполнения таких конъюгаций доступны в научной литературе. Такие нелигандные фрагменты включают липидные фрагменты, такие как холестерин (*Kubo, T. et al., Biochem. Biophys. Res. Comm., 2007, 365(1):54-61; Letsinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1989, 86:6553*), холевую кислоту (*Manoharan et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 1994, 4:1053*), тиозфир, например, гексил-S-тритилтиол (*Manoharan et al., Ann. N.Y. Acad. Sci., 1992, 660:306; Manoharan et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 1993, 3:2765*), тиохолестерин (*Oberhauser et al., Nucl. Acids Res., 1992, 20:533*), алифатическую цепь, например, додекандиоловые или ундецильные остатки (*Saison-Behmoaras et al., EMBO J., 1991, 10:111; Kabanov et al., FEBS Lett., 1990, 259*). :327; *Svinarchuk et al., Biochimie, 1993, 75:49*), фосфолипид, например, ди-гексадецил-рац-глицерин или 1,2-ди-O-гексадецил-рац-глицеро-3-Н-фосфонат триэтиламмония (*Manoharan et al., Tetrahedron Lett., 1995, 36:3651; Shea et al., Nucl. Acids Res., 1990, 18:3777*), цепь полиамина или полиэтиленгликоля (*Manoharan et al., Nucleosides & Nucleotides, 1995, 14:969*), или адамантануксусную кислоту (*Manoharan et al., Tetrahedron Lett., 1995, 36:3651*), пальмитильную группу (*Mishra et al., Biochim. Biophys. Acta, 1995, 1264:229*), или фрагмент октадециламина или гексиламинокарбонилкоксистерина (*Crooke et al., J. Pharmacol. Exp. Ther., 1996, 277:923*). Соответствующие патенты США, в которых описано получение таких конъюгатов РНК, перечислены выше. Типичные протоколы конъюгации включают синтез РНК, несущих аминоклипер в одном или нескольких положениях последовательности. Затем аминогруппа вступает в реакцию с конъюгируемой молекулой с использованием соответствующих связывающих или активирующих реагентов. Реакцию конъюгации можно проводить либо с РНК, все еще связанной с твердой подложкой, либо после расщепления РНК в фазе раствора. Очистка конъюгата РНК с помощью HPLC (ВЭЖХ) обычно дает чистый конъюгат.

#### **IV. Доставка иРНК по изобретению**

Доставка иРНК по изобретению в клетку, например, клетку субъекта, такого как субъект-человек (например, субъект, нуждающийся в этом, такой как субъект, предрасположенный к расстройству, связанному с PNPLA3, или у которого

диагностировано заболевание, связанное с PNPLA3, например, NAFLD) может быть достигнута различными способами. Например, доставка может осуществляться путем контакта клетки с иРНК по изобретению либо *in vitro*, либо *in vivo*. Доставка *in vivo* также может осуществляться непосредственно путем введения субъекту композиции, содержащей иРНК, например, dsРНК. Альтернативно, доставка *in vivo* может осуществляться косвенно путем введения одного или более векторов, кодирующих и направляющих экспрессию иРНК. Эти альтернативы обсуждаются ниже.

В общем, любой способ доставки молекулы нуклеиновой кислоты (*in vitro* или *in vivo*) может быть адаптирован для использования с иРНК по изобретению (см., например, Akhtar S. and Julian RL. (1992) *Trends Cell. Biol.* 2(5):139-144 и WO 94/02595, содержание которых полностью включено в настоящее описание посредством ссылки). Для доставки *in vivo* факторы, которые необходимо учитывать для доставки молекулы иРНК, включают, например, биологическую стабильность доставляемой молекулы, предотвращение неспецифических эффектов и накопление доставляемой молекулы в ткани-мишени. РНК-интерференция также успешна при локальной доставке в ЦНС путем прямой инъекции (Dorn, G., et al. (2004) *Nucleic Acids* 32:e49; Tan, PH., et al (2005) *Gene Ther.* 12:59-66; Makimura, H., et al (2002) *BMC Neurosci.* 3:18; Shishkina, GT., et al (2004) *Neuroscience* 129:521-528; Thakker, ER., et al (2004) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 101:17270-17275; Akaneya, Y., et al (2005) *J. Neurophysiol.* 93:594-602). Модификация РНК или фармацевтического носителя также может обеспечить нацеливание иРНК на ткань-мишень и избежать нежелательных побочных эффектов. Молекулы иРНК могут быть модифицированы путем химической конъюгации с липофильными группами, такими как холестерин, для усиления захвата клетками и предотвращения деградации. Например, когда иРНК, нацеленная на ApoB, конъюгированная с липофильным фрагментом холестерина, систематически вводилась мышам, это приводило к нокдауну мРНК apoB как в печени, так и в тонкой кишке (Soutschek, J., et al. (2004) *Nature* 432:173-178).

В альтернативном варианте осуществления иРНК может быть доставлена с использованием систем доставки лекарственных средств, таких как наночастицы, дендример, полимер, липосомы или катионная система доставки. Положительно заряженные катионные системы доставки облегчают связывание молекулы иРНК (отрицательно заряженной), а также усиливают взаимодействие на отрицательно заряженной клеточной мембране, обеспечивая эффективное поглощение иРНК клеткой. Катионные липиды, дендримеры или полимеры могут либо связываться с иРНК, либо вызвать образование везикулы или мицеллы (см., например, Kim SH, et al (2008) *Journal of Controlled Release* 129(2):107-116), содержащей в себе иРНК. Образование везикул или мицелл дополнительно предотвращает деградацию иРНК при системном введении. Способы получения и введения комплексов катион- иРНК хорошо известны специалистам в данной области техники (см., например, Sorensen, DR, et al. (2003) *J. Mol. Biol.* 327:761-766; Verma, UN, et al. (2003) *Clin. Cancer Res.* 9:1291-1300, Arnold, AS et al (2007) *J. Hypertens.* 25:197-205, содержание которых полностью включено в настоящее описание

посредством ссылки). Некоторые неограничивающие примеры систем доставки лекарственных средств, подходящих для системной доставки иРНК, включают DOTAP (Sorensen, DR., et al. (2003), см. выше; Verma, UN, et al. (2003), см. выше), «твердые частицы липидов нуклеиновых кислот». (Zimmermann, TS, et al (2006) *Nature* 441:111-114), кардиолипид (Chien, PY, et al (2005) *Cancer Gene Ther.* 12:321-328; Pal, A, et al (2005) *Int. J. Oncol.* 26:1087-1091), полиэтиленимин (Bonnet ME, et al (2008) *Pharm. Res.* Aug 16 Epub ahead of print; Aigner, A. (2006) *J. Biomed. Biotechnol.* 71659), Arg-Gly-Asp (RGD) peptides (Liu, S. (2006) *Mol. Pharm.* 3:472-487), и полиамидоамины (Tomalia, DA, et al (2007) *Biochem. Soc. Trans.* 35:61-67; Yoo, H., et al (1999) *Pharm. Res.* 16:1799-1804). В некоторых вариантах осуществления иРНК образует комплекс с циклодекстрином для системного введения. Способы введения и фармацевтические композиции иРНК и циклодекстринов можно найти в патенте США № 7427605, содержание которого полностью включено в настоящее описание посредством ссылки.

#### *А. иРНК по изобретению, кодируемые вектором*

иРНК, нацеленная на ген PNPLA3, может быть экспрессирована из единиц транскрипции, встроенных в векторы ДНК или РНК (см., например, Couture, A, et al., *TIG.* (1996), 12:5-10; Skillern, A, et al., *Международная публикация PCT № WO 00/22113, Международная публикация PCT № WO 00/22114 и патент США № 6 054 299*). Экспрессия может быть преходящей (порядка часов или недель) или устойчивой (от недель до месяцев или дольше), в зависимости от конкретной используемой конструкции и типа ткани или клетки-мишени. Эти трансгены могут быть введены в виде линейной конструкции, кольцевой плазмиды или вирусного вектора, который может быть интегрирующимся или неинтегрирующимся вектором. Трансген также может быть сконструирован так, чтобы он наследовался как внехромосомная плазида (Gassmann, et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* (1995) 92:1292).

Вирусные векторные системы, которые можно использовать с описанными здесь способами и композициями, включают, без ограничения таковыми, (а) аденовирусные векторы; (b) ретровирусные векторы, включая, без ограничения таковыми, лентивирусные векторы, вирус мышинного лейкоза Молони и т.д.; (с) аденоассоциированные вирусные векторы; (d) векторы вируса простого герпеса; (е) векторы SV 40; (f) векторы вируса полиомы; (g) векторы вируса папилломы; (h) пикорнавирусные векторы; (i) векторы вируса оспы, такие как ортопокс, например, векторы вируса коровьей оспы или авипокс, например оспы канареек или оспы кур; и (j) хелпер-зависимый или «пустой» аденовирус. Вирусы с дефектом репликации также могут оказаться полезными. Различные векторы могут интегрироваться или не интегрироваться в геном клеток. При желании, конструкции могут включать вирусные последовательности для трансфекции. Альтернативно, конструкции могут быть включены в векторы, способные к эпизомной репликации, например, векторы EPV и EBV. Конструкции для рекомбинантной экспрессии иРНК обычно требуют регуляторных элементов, например промоторов, энхансеров и т. д., для обеспечения экспрессии иРНК в клетках-мишенях. Другие аспекты,



которые следует учитывать для векторов и конструкций, также известны в данной области техники.

#### **V. Фармацевтические композиции по изобретению**

Настоящее изобретение также включает фармацевтические композиции и составы, включающие иРНК по изобретению. В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к фармацевтическим композициям, содержащим иРНК, как описано в настоящем изобретении, и фармацевтически приемлемый носитель. Фармацевтические композиции, содержащие иРНК, применимы для профилактики или лечения расстройств, связанных с PNPLA3, например, гипертриглицеридемии. Такие фармацевтические композиции составляются с учетом способа доставки. Одним из примеров являются композиции, составленные для системного введения путем парентеральной доставки, например, путем подкожной (SC), внутримышечной (IM) или внутривенной (IV) доставки. Фармацевтические композиции по изобретению можно вводить в дозах, достаточных для ингибирования экспрессии гена PNPLA3.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтические композиции по изобретению являются стерильными. В другом варианте осуществления фармацевтические композиции по изобретению не содержат пирогенов.

Фармацевтические композиции по изобретению можно вводить в дозах, достаточных для ингибирования экспрессии гена PNPLA3. Как правило, подходящая доза иРНК по изобретению будет находиться в диапазоне от приблизительно 0,001 до приблизительно 200,0 мг на килограмм веса тела реципиента в день, обычно в диапазоне приблизительно от 1 до 50 мг на килограмм веса тела в день. Как правило, подходящая доза иРНК по изобретению будет находиться в диапазоне от приблизительно 0,1 мг/кг до приблизительно 5,0 мг/кг, предпочтительно приблизительно от 0,3 мг/кг до приблизительно 3,0 мг/кг. Регламент повторных доз может включать введение терапевтического количества иРНК на регулярной основе, например, каждый месяц, один раз каждые 3-6 месяцев или один раз в год. В некоторых вариантах осуществления иРНК вводят приблизительно от одного раза в месяц до приблизительно одного раза в шесть месяцев.

После осуществления начальной схемы лечения лечение можно проводить реже. Продолжительность лечения может быть определена в зависимости от тяжести заболевания.

В других вариантах осуществления однократная доза фармацевтических композиций может обладать продолжительным действием, так что дозы вводят с интервалами не более 1, 2, 3 или 4 месяцев. В некоторых вариантах осуществления изобретения разовую дозу фармацевтических композиций по изобретению вводят приблизительно один раз в месяц. В других вариантах осуществления изобретения разовую дозу фармацевтических композиций по изобретению вводят ежеквартально (т.е. приблизительно каждые три месяца). В других вариантах осуществления изобретения разовую дозу фармацевтических композиций по изобретению вводят дважды в год (т.е.

приблизительно раз в шесть месяцев).

Специалисту в данной области техники будет понятно, что определенные факторы могут влиять на дозировку и сроки, необходимые для эффективного лечения субъекта, и включают, помимо прочего, мутации, присутствующие у субъекта, предшествующее лечение, общее состояние здоровья или возраст субъекта и другие присутствующие заболевания. Более того, лечение субъекта профилактически или терапевтически эффективным количеством композиции, в зависимости от ситуации, может включать однократное лечение или серию обработок.

иРНК может быть доставлена таким образом, чтобы нацеливаться на конкретную ткань (например, гепатоциты).

Фармацевтические композиции по настоящему изобретению включают, без ограничения таковыми, растворы, эмульсии и составы, содержащие липосомы. Эти композиции могут быть получены из множества компонентов, включающих, без ограничения таковыми, предварительно приготовленные жидкости, самоэмульгирующиеся твердые вещества и самоэмульгирующиеся полутвердые вещества. Фармацевтические составы включают те составы, которые нацелены на печень.

Фармацевтические составы по настоящему изобретению, которые могут быть представлены в стандартной лекарственной форме, могут быть приготовлены в соответствии с обычными методами, хорошо известными в фармацевтической промышленности. Такие методики включают стадию связывания активных ингредиентов с фармацевтическим носителем (носителями) или наполнителем (наполнителями). Как правило, составы готовят путем однородной и тесной ассоциации активных ингредиентов с жидкими носителями.

#### *A. Дополнительные составы*

##### *i. Эмульсии*

Композиции по настоящему изобретению могут быть приготовлены и сформулированы в виде эмульсий. Эмульсии обычно представляют собой гетерогенные системы одной жидкости, диспергированной в другой в виде капель, обычно превышающих 0,1 мкм в диаметре (см., например, *Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems*, Allen, LV., Popovich NG., and Ansel HC., 2004, Lippincott Williams & Wilkins (8th ed.), New York, NY; Idson, in *Pharmaceutical Dosage Forms*, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., volume 1, p. 199; Rosoff, in *Pharmaceutical Dosage Forms*, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., Volume 1, p. 245; Block in *Pharmaceutical Dosage Forms*, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., volume 2, p. 335; Higuchi et al., in *Remington's Pharmaceutical Sciences*, Mack Publishing Co., Easton, Pa., 1985, p. 301). Эмульсии часто представляют собой двухфазные системы, состоящие из двух несмешивающихся жидких фаз, тщательно перемешанных и диспергированных друг с другом. Как правило, эмульсии могут быть типа вода-в-масле (w/o) или масло-в-воде (o/w). Когда водная фаза диспергирована в виде мельчайших капель в объемной масляной

фазе, полученная композиция называется эмульсией вода-в-масле (w/o). Альтернативно, когда масляная фаза тонко разделена и диспергирована в виде мельчайших капелек в объемной водной фазе, полученная композиция называется эмульсией масло-в-воде (o/w). Эмульсии могут содержать дополнительные компоненты помимо дисперсных фаз, а активное лекарственное средство может находиться в виде раствора либо в водной фазе, либо в масляной фазе, либо само по себе в виде отдельной фазы. Фармацевтические вспомогательные вещества, такие как эмульгаторы, стабилизаторы, красители и антиоксиданты, также могут присутствовать в эмульсиях по мере необходимости. Фармацевтические эмульсии также могут представлять собой множественные эмульсии, состоящие из более чем двух фаз, как, например, в случае масло-в-воде-в-масле (o/w/o) или вода-в-масле-в-воде (w/o/w) эмульсии. Такие сложные составы часто обеспечивают определенные преимущества, которых нет у простых бинарных эмульсий. Множественные эмульсии, в которых отдельные капельки масла эмульсии o/w заключают в себе небольшие капли воды, составляют эмульсию w/o/w. Точно так же система капель масла, заключенных в глобулы воды, стабилизированные в маслянистой непрерывной фазе, образует эмульсию o/w/o.

Эмульсии характеризуются малой или нулевой термодинамической стабильностью. Часто дисперсную или прерывистую фазу эмульсии хорошо диспергируют во внешней или непрерывной фазе и поддерживают в таком виде за счет эмульгаторов или вязкости состава. Другие способы стабилизации эмульсий включают использование эмульгаторов, которые могут быть включены в любую фазу эмульсии. Эмульгаторы можно разделить на четыре категории: синтетические поверхностно-активные вещества, природные эмульгаторы, абсорбирующие основы и мелкодисперсные твердые вещества (см., например *Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems*, Allen, LV., Popovich NG., and Ansel HC., 2004, Lippincott Williams & Wilkins (8th ed.), New York, NY; Idson, in *Pharmaceutical Dosage Forms*, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., volume 1, p. 199).

Синтетические сурфактанты, также известные как поверхностно-активные вещества, нашли широкое применение в составе эмульсий и были рассмотрены в литературе (см., например, *Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems*, Allen, LV., Popovich NG., and Ansel HC., 2004, Lippincott Williams & Wilkins (8th ed.), New York, NY; Rieger, in *Pharmaceutical Dosage Forms*, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., volume 1, p. 285; Idson, in *Pharmaceutical Dosage Forms*, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., 1988, volume 1, p. 199). Поверхностно-активные вещества обычно являются амфифильными и содержат гидрофильную и гидрофобную части. Соотношение гидрофильной и гидрофобной природы поверхностно-активного вещества было названо гидрофильно-липофильным балансом (HLB), таковое является ценным инструментом для классификации и выбора поверхностно-активных веществ при приготовлении составов. Поверхностно-активные вещества можно разделить на различные классы в зависимости от

природы гидрофильной группы: неионогенные, анионогенные, катионогенные и амфотерные (см., например, *Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems*, Allen, LV., Popovich NG., and Ansel HC., 2004, Lippincott Williams & Wilkins (8th ed.), New York, NY; Rieger, in *Pharmaceutical Dosage Forms*, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., volume 1, p. 285).

Большое разнообразие неэмульгирующих материалов также может включаться в рецептуры эмульсий для преобразования свойств эмульсий. К ним относятся жиры, масла, воски, жирные кислоты, жирные спирты, сложные эфиры жирных кислот, увлажнители, гидрофильные коллоиды, консерванты и антиоксиданты (*Block*, in *Pharmaceutical Dosage Forms*, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., volume 1, p. 335; *Idson*, in *Pharmaceutical Dosage Forms*, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., volume 1, p. 199).

Применение составов эмульсий дерматологическим, пероральным и парентеральным путями, а также способы их изготовления были рассмотрены в литературе (см., например, *Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems*, Allen, LV., Popovich NG., and Ansel HC., 2004, Lippincott Williams & Wilkins (8th ed.), New York, NY; *Idson*, in *Pharmaceutical Dosage Forms*, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., volume 1, p. 199).

### II. Микроэмульсии

В одном варианте осуществления настоящего изобретения композиции иРНК и нуклеиновых кислот готовят в виде микроэмульсий. Микроэмульсия может быть определена как система воды, масла и амфифильного соединения, представляющая собой единый оптически изотропный и термодинамически стабильный жидкий раствор (см., например, *Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems*, Allen, LV., Popovich NG., and Ansel HC., 2004, Lippincott Williams & Wilkins (8th ed.), New York, NY; *Rosoff*, in *Pharmaceutical Dosage Forms*, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., volume 1, p. 245). Обычно микроэмульсии представляют собой системы, которые получают сначала путем диспергирования масла в водном растворе поверхностно-активного вещества, и последующего добавления достаточного количества четвертого компонента, обычно спирта со средней длиной цепи, для образования прозрачной системы. Таким образом, микроэмульсии также были описаны как термодинамически стабильные, изотропно чистые дисперсии двух несмешивающихся жидкостей, стабилизированных межфазными пленками поверхностно-активных молекул (*Leung and Shah*, in: *Controlled Release of Drugs: Polymers and Aggregate Systems*, *Rosoff*, M., Ed., 1989, VCH Publishers, New York, pages 185-215).

### III. Микрочастицы

иРНК по изобретению может быть включена в частицу, например микрочастицу. Микрочастицы могут быть получены распылительной сушкой или другими способами, включая лиофилизацию, выпаривание, сушку в псевдооживленном слое, вакуумную сушку или комбинацию этих методов.

#### IV. Усилители проникновения в клетку

В одном варианте осуществления в настоящем изобретении используются различные усилители проникновения для осуществления эффективной доставки нуклеиновых кислот, в частности иРНК, в кожу животных. Большинство лекарств присутствуют в растворе как в ионизированной, так и в неионизированной формах. Однако, обычно только жирорастворимые или липофильные препараты легко проникают через клеточные мембраны. Было обнаружено, что даже нелипофильные лекарственные средства могут проникать через клеточные мембраны, если мембрана, которую необходимо преодолеть, обработана усилителем проникновения. Помимо содействия диффузии нелипофильных препаратов через клеточные мембраны, усилители проникновения также повышают проницаемость липофильных препаратов.

Усилители проникновения можно отнести к одной из пяти широких категорий, т. е. поверхностно-активные вещества, жирные кислоты, соли желчных кислот, хелатирующие агенты и вещества, не являющиеся хелатирующими агентами или поверхностно-активными веществами (см., например, *Malmsten, M. Surfactants and polymers in drug delivery, Informa Health Care, New York, NY, 2002; Lee et al., Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems, 1991, p.92*). Каждый из вышеупомянутых классов усилителей проникновения, а также применение таковых в производстве фармацевтических композиций и доставке фармацевтических агентов хорошо известны в данной области техники.

#### v. Эксципиенты

В отличие от соединения-носителя «фармацевтический носитель» или «эксципиент» представляет собой фармацевтически приемлемый растворитель, суспендирующий агент или любой другой фармакологически инертный носитель для доставки одной или нескольких нуклеиновых кислот животному. Эксципиент может быть жидким или твердым, эксципиент выбирают с учетом запланированного способа введения, чтобы обеспечить желаемый объем, консистенцию и т. д. при объединении с нуклеиновой кислотой и другими компонентами данной фармацевтической композиции. Такие агенты хорошо известны в данной области техники.

#### vi. Другие компоненты

Композиции по настоящему изобретению могут дополнительно содержать другие вспомогательные компоненты, обычно присутствующие в фармацевтических композициях, в пределах их использования, установленных в данной области техники. Так, например, композиции могут содержать дополнительные, совместимые, фармацевтически активные вещества, такие как, например, противозудные средства, вяжущие средства, местные анестетики или противовоспалительные средства, или могут содержать дополнительные вещества, пригодные для физического приготовления различных лекарственных форм композиций по настоящему изобретению, такие как красители, ароматизаторы, консерванты, антиоксиданты, замутнители, загустители и стабилизаторы. Однако, такие материалы при добавлении не должны чрезмерно мешать

биологической активности компонентов композиций по настоящему изобретению. Препараты можно стерилизовать и, при желании, смешивать со вспомогательными агентами, например, смазывающими веществами, консервантами, стабилизаторами, смачивающими агентами, эмульгаторами, солями для воздействия на осмотическое давление, буферами, красителями, ароматизаторами или ароматическими веществами и т.п., которые не приводят к нежелательному взаимодействию с нуклеиновой кислотой(ами) состава.

Водные суспензии могут содержать вещества, повышающие вязкость суспензии, включая, например, карбоксиметилцеллюлозу натрия, сорбит или декстран. Суспензия также может содержать стабилизаторы.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтические композиции, представленные в изобретении, включают (а) одну или более иРНК и (b) один или более агентов, которые действуют по механизму, отличному от иРНК, и которые применимы для лечения расстройств, связанных с PNPLA33, например, NAFLD.

Токсичность и профилактическая эффективность таких соединений могут быть определены стандартными фармацевтическими процедурами на культурах клеток или экспериментальных животных, например, для определения LD50 (доза, летальная для 50% населения) и ED50 (доза, профилактически эффективная для 50% населения). Соотношение доз между токсическим и терапевтическим эффектами является терапевтическим индексом и может быть выражено как отношение LD50/ED50. Соединения, имеющие высокие терапевтические индексы, являются предпочтительными.

Данные, полученные в результате анализов клеточных культур и исследований на животных, могут быть использованы при определении диапазона дозировок для применения у людей. Дозировка композиций, представленных здесь в изобретении, обычно находится в диапазоне циркулирующих концентраций, включающих ED50, предпочтительно ED80 или ED90, с небольшой токсичностью или без нее. Дозировка может варьироваться в пределах этого диапазона в зависимости от используемой лекарственной формы и используемого пути введения. Для любого соединения, используемого в способах, представленных в изобретении, профилактически эффективная доза может быть первоначально оценена при анализе клеточных культур. Доза может быть составлена для использования на животных моделях для достижения диапазона концентраций соединения в циркулирующей плазме или, при необходимости, концентраций полипептидного продукта целевой последовательности (например, для достижения сниженной концентрации полипептида), с учетом IC50 (т.е. концентрация испытуемого соединения, при которой достигается полумаксимальное ингибирование симптомов) или для достижения более высоких уровней ингибирования, определенных в клеточной культуре. Такая информация может быть использована для более точного определения используемых доз для человека. Уровни в плазме можно измерить, например, с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии.

В дополнение к способам иРНК введения, как обсуждалось выше, иРНК,

представленные в изобретении, можно вводить в комбинации с другими известными агентами, используемыми для профилактики или лечения расстройства, связанного с PNPLA3, например, NAFLD. В любом случае лечащий врач может регулировать количество и время введения иРНК на основе результатов, наблюдаемых при использовании стандартных показателей эффективности, известных в данной области техники или описанных в настоящем изобретении.

#### **VI. Способы ингибирования экспрессии PNPLA3**

Настоящее изобретение также относится к способам ингибирования экспрессии гена PNPLA3 в клетке. Способы включают приведение клетки в контакт с иРНК агентом, например агентом двухцепочечной РНК, в количестве, эффективном для ингибирования экспрессии PNPLA3 в клетке, что приводит к ингибированию экспрессии PNPLA3 в клетке.

Контактирование клетки с иРНК, например двухцепочечным РНК агентом, может осуществляться *in vitro* или *in vivo*. Контактирование клетки *in vivo* с иРНК включает контактирование клетки или группы клеток субъекта, например человека, с иРНК. Также возможны комбинации способов контакта с клеткой *in vitro* и *in vivo*. Контакт с клеткой может быть прямым или косвенным, как обсуждалось выше. Кроме того, контактирование с клеткой может быть осуществлено посредством нацеливающего лиганда, включая любой лиганд, описанный в настоящем изобретении или известный в данной области техники. В предпочтительных вариантах осуществления нацеливающий лиганд представляет собой углеводную группу, например, лиганд GalNAc3 или любой другой лиганд, направляющий иРНК агент в представляющий интерес сайт.

Используемый здесь термин «ингибирование» используется взаимозаменяемо с терминами «уменьшение», «сайленсинг», «снижение уровня регуляции», «подавление» и другими подобными терминами и включает любой уровень ингибирования.

Фраза «ингибирование экспрессии PNPLA3» предназначена для обозначения ингибирования экспрессии любого гена PNPLA3 (например, гена PNPLA3 3 мыши, гена PNPLA3 крысы, гена PNPLA3 обезьяны или гена PNPLA3 человека), а также вариантов или мутантов гена PNPLA3. Таким образом, ген PNPLA3 может быть геном PNPLA3 дикого типа, мутантным геном PNPLA3 или трансгенным геном PNPLA3 в контексте генетически модифицированной клетки, группы клеток или организма.

«Ингибирование экспрессии гена PNPLA3» включает любой уровень ингибирования гена PNPLA3, например, по меньшей мере частичное подавление экспрессии гена PNPLA3. Экспрессию гена PNPLA3 можно оценивать на основе уровня или изменения уровня любой переменной, связанной с экспрессией гена PNPLA3, например, уровня мРНК PNPLA3 или уровня белка PNPLA3. Этот уровень можно оценить в отдельной клетке или в группе клеток, включая, например, образец, полученный от субъекта. Понятно, что PNPLA3 экспрессируется преимущественно в печени, а также в головном мозге, желчном пузыре, сердце и почках и присутствует в кровотоке.

Ингибирование можно оценить по снижению абсолютного или относительного

уровня одной или нескольких переменных, связанных с экспрессией PNPLA3, по сравнению с контрольным уровнем. Контрольный уровень может представлять собой контрольный уровень любого типа, который используется в данной области, например, исходный уровень перед введением дозы или уровень, определенный на аналогичном субъекте, клетке или образце, которые не подвергались лечению или подвергались обработке контролем (таким как, например, буфер или неактивный агент).

В некоторых вариантах осуществления способов по изобретению экспрессия гена PNPLA3 ингибируется по меньшей мере на 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% или находится ниже уровня обнаружения анализа. В предпочтительных вариантах экспрессия PNPLA3 гена ингибируется не менее чем на 70%. Также понятно, что может быть желательным ингибирование экспрессии PNPLA3 в определенных тканях, например, в печени, без значительного ингибирования экспрессии в других тканях, например, мозге. В предпочтительных вариантах осуществления уровень экспрессии определяют с использованием метода анализа, представленного в Примере 2, с концентрацией 10 нМ siРНК в клеточной линии соответствующих видов.

В некоторых вариантах осуществления ингибирование экспрессии *in vivo* определяется нокдауном человеческого гена у грызунов, экспрессирующих человеческий ген, например, у мыши, инфицированной AAV, экспрессирующей человеческий целевой ген (т.е. PNPLA3), например, при введении однократной дозы, например, 3 мг/кг при максимуме экспрессии РНК. Нокдаун экспрессии эндогенного гена в животных моделях также можно определить, например, после введения однократной дозы, например, 3 мг/кг, на самом низком уровне экспрессии РНК. Такие системы применимы, когда последовательности нуклеиновых кислот гена человека и гена модельного животного достаточно близки, так что иРНК человека обеспечивает эффективный нокдаун гена модельного животного. Экспрессию РНК в печени определяют с использованием методов ПЦР, представленных в Примере 2.

Ингибирование экспрессии гена PNPLA3 может проявляться снижением количества мРНК, экспрессируемой первой клеткой или группой клеток (такие клетки могут присутствовать, например, в образце, полученном от субъекта), в котором PNPLA3 ген транскрибируется и который подвергался или подвергался лечению (например, путем контакта клетки или клеток с иРНК по изобретению или путем введения иРНК по изобретению субъекту, в котором клетки присутствуют или присутствовали), так что экспрессия гена PNPLA3 ингибируется по сравнению со второй клеткой или группой клеток, по существу идентичных первой клетке или группе клеток, но которые не подвергались обработке вообще или не подвергались конкретной обработке (контрольные клетки, не обработанные иРНК или не обработанные иРНК, нацеленной на интересующий ген). В предпочтительных вариантах осуществления ингибирование оценивают по способу, представленному в Примере 2, с использованием концентрации 10 нМ siРНК в клеточной линии подходящего вида и определением уровня мРНК в обработанных клетках в процентах от уровня мРНК в контрольных клетках по следующей формуле:



$$\frac{(\text{мРНК в контрольных клетках}) - (\text{мРНК в обработанных клетках})}{(\text{мРНК в контрольных клетках})} \bullet 100\%$$

В других вариантах осуществления ингибирование экспрессии гена PNPLA3 можно оценивать по снижению параметра, функционально связанного с экспрессией гена PNPLA3, например уровня белка PNPLA3 в крови или сыворотке субъекта. Сайленсинг гена PNPLA3 можно определить в любой клетке, экспрессирующей PNPLA3, как эндогенной, так и гетерологичной, с использованием экспрессионной конструкции и с помощью любого анализа, известного в данной области техники.

Ингибирование экспрессии белка PNPLA3 может проявляться снижением уровня белка PNPLA3, который экспрессируется клеткой или группой клеток в исследуемом образце (например, уровень белка в образце крови, полученном от субъекта. Как объяснялось выше, для оценки подавления мРНК ингибирование уровня экспрессии белка в обработанной клетке или группе клеток может быть аналогичным образом выражено в процентах от уровня белка в контрольной клетке или группе клеток, или изменение в уровне белка в исследуемом образце, например крови или полученной из нее сыворотке.

Контрольная клетка, группа клеток или образец субъекта, которые можно использовать для оценки ингибирования экспрессии гена PNPLA3, включают клетку, группу клеток или образец субъекта, не контактировавшими с РНКи агентом по изобретению. Например, контрольная клетка, группа клеток или образец субъекта могут быть получены от отдельного субъекта (например, человека или животного) до лечения субъекта РНКи агентом или соответствующим образом подобранным популяционным контролем.

Уровень мРНК PNPLA3, который экспрессируется клеткой или группой клеток, может быть определен с использованием любого известного в данной области метода оценки экспрессии мРНК. В одном варианте осуществления уровень экспрессии PNPLA3 в образце определяют путем обнаружения транскрибируемого полинуклеотида или его части, например, мРНК гена PNPLA3. РНК можно экстрагировать из клеток с использованием методов выделения РНК, включая, например, экстракцию кислотом фенолом/гуанидинизотиоцианатом (RNazol B; Biogenesis), или используя наборы РНК RNeasy™ (Qiagen®) или PAXgene™ (PreAnalytix™, Switzerland). Типичные форматы анализов, использующих гибридизацию рибонуклеиновой кислоты, включают ядерные анализы (nuclear run-on assays), RT-PCR, анализы защиты от РНКаз, нозерн-блоттинг, гибридизацию *in situ* и микрочиповый анализ (microarray).

В некоторых вариантах осуществления уровень экспрессии PNPLA3 определяют с помощью зонда нуклеиновой кислоты. Термин «зонд», используемый в настоящем изобретении, относится к любой молекуле, которая способна избирательно связываться со специфическим PNPLA3. Зонды могут быть синтезированы специалистом в данной области или получены из соответствующих биологических препаратов. Зонды могут быть специально разработаны для маркировки. Примеры молекул, которые можно использовать в качестве зондов, включают, без ограничения таковыми, РНК, ДНК, белки,

антитела и органические молекулы.

Выделенную мРНК можно использовать в анализах гибридизации или амплификации, которые включают, помимо прочего, саузерн- или нозерн-блоттинг анализы, анализы полимеразной цепной реакции (ПЦР) и анализы с использованием наборов зондов. Один из способов определения уровней мРНК включает контактирование выделенной мРНК с молекулой нуклеиновой кислоты (зондом), способной гибридизоваться с мРНК PNPLA3. В одном варианте осуществления мРНК иммобилизуют на твердой поверхности и приводят в контакт с зондом, например, путем обработки выделенной мРНК на агарозном геле и переноса мРНК из геля на мембрану, такую как нитроцеллюлоза. В альтернативном варианте осуществления зонд(ы) иммобилизуют на твердой поверхности, и мРНК контактирует с зондом(ами), например, в матрице генных чипов Affymetrix®. Квалифицированный специалист может легко адаптировать известные способы обнаружения мРНК для использования с целью определения уровня мРНК PNPLA3.

Альтернативные методы определения уровня экспрессии PNPLA3 в образце включают процесс амплификации нуклеиновой кислоты или обратной транскриптазы (для получения кДНК), например, мРНК в образце, например, с помощью RT-PCR (экспериментальный вариант осуществления изложен в *Mullis, 1987, U.S. Patent No. 4,683,202*), лигазную цепную реакцию (*Barany (1991) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:189-193*), самоподдерживающуюся репликацию последовательности (*Guatelli et al. (1990) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87:1874-1878*), систему амплификации транскрипции (*Kwoh et al. (1989) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:1173-1177*), Q-Beta репликазу (*Lizardi et al. (Lizardi et al.) 1988) Bio/Technology 6:1197*), репликацию по типу катящегося кольца (*Lizardi et al., U.S. Patent No. 5854033*) или любой другой метод амплификации нуклеиновых кислот с последующим обнаружением амплифицированных молекул с использованием методов, хорошо известных специалистам в данной области техники. Эти схемы обнаружения особенно полезны для обнаружения молекул нуклеиновых кислот, если такие молекулы присутствуют в очень небольшом количестве. В конкретных аспектах изобретения уровень экспрессии PNPLA3 определяют с помощью количественной флуорогенной RT-PCR (т.е. системы TaqMan™). В предпочтительных вариантах осуществления уровень экспрессии определяют способом, представленным в Примере 2, с использованием, например, концентрации 10 нМ siРНК в клеточной линии соответствующего вида.

Уровни экспрессии мРНК PNPLA3 можно контролировать с помощью мембранного блоттинга (например, используемого в анализе гибридизации, такого как нозерн, саузерн, дот (точечного) и т.п.) или микролунок, пробирок для образцов, гелей, гранул или волокон (или любой твердой подложки, содержащей связанные нуклеиновые кислоты). См. патенты США №№ 5 770 722, 5 874 219, 5 744 305, 5 677 195 и 5 445 934, содержание которых включено в настоящее описание посредством ссылки. Определение уровня экспрессии PNPLA3 также может включать использование зондов нуклеиновых кислот в растворе.

В предпочтительных вариантах осуществления уровень экспрессии мРНК оценивают с использованием анализов разветвленной ДНК (bDNA) или ПЦР в реальном времени (qPCR). Использование этих способов описано и проиллюстрировано в примерах, представленных здесь. В предпочтительных вариантах осуществления уровень экспрессии определяют способом, представленным в Примере 2, с использованием концентрации 10 нМ siРНК в клеточной линии подходящего вида.

Уровень экспрессии белка PNPLA3 можно определить с использованием любого известного в данной области метода измерения уровней белка. Такие методы включают, например, электрофорез, капиллярный электрофорез, высокоэффективную жидкостную хроматографию (HPLC), тонкослойную хроматографию (TLC), гипердиффузионную хроматографию, жидкостные или гелевые реакции преципитации, абсорбционную спектроскопию, колориметрические анализы, спектрофотометрические анализы, проточную цитометрию, иммунодиффузию (одинарную или двойную), иммуноэлектрофорез, вестерн-блоттинг, радиоиммуноанализ (RIA), твердофазный иммуноферментный анализ (ELISA), иммунофлуоресцентный анализ, электрохемилюминесцентный анализ и т.п.

В некоторых вариантах осуществления эффективность способов по изобретению оценивают по снижению уровня мРНК или белка PNPLA3 (например, в биопсии печени).

В некоторых вариантах осуществления способов по изобретению иРНК вводят субъекту таким образом, что иРНК доставляется в конкретный участок внутри субъекта. Ингибирование экспрессии PNPLA3 можно оценить с помощью измерений уровня или по изменению уровня мРНК PNPLA3 или белка PNPLA3 в образце, полученном из жидкости или ткани из определенного участка тела субъекта (например, печени или крови).

Используемые здесь термины «обнаружение или определение уровня анализируемого вещества» означают выполнение стадий для определения наличия материала, например, белка, РНК. Используемые здесь способы обнаружения или определения включают обнаружение или определение уровня аналита, который ниже уровня обнаружения для используемого метода.

## **VII. Способы профилактики и лечения согласно изобретению**

Настоящее изобретение также относится к способам применения иРНК по изобретению или композиции, содержащей иРНК по изобретению, для ингибирования экспрессии PNPLA3, что предотвращает или способствует лечению PNPLA3-ассоциированного заболевания, такого как жировая дистрофия печени (стеатоз), неалкогольный стеатогепатит (NASH), цирроз печени, накопление жира в печени, воспаление печени, гепатоцеллюлярный некроз, фиброз печени, ожирение или неалкогольная жировая болезнь печени (NAFLD). В способах по изобретению клетка может контактировать с siРНК *in vitro* или *in vivo*, т.е. клетка может находиться внутри субъекта.

Клетка, подходящая для лечения с использованием способов по изобретению, может быть любой клеткой, экспрессирующей ген PNPLA3, например, клеткой печени,

клеткой головного мозга, клеткой желчного пузыря, клеткой сердца или клеткой почки, но предпочтительно является клеткой печени. Клеткой, подходящей для применения в способах по изобретению, может быть клетка млекопитающего, например, клетка примата (такая как человеческая клетка, включая человеческую клетку химерного животного, отличного от человека, или клетка примата, отличного от человека, например, клетка обезьяны или клетка шимпанзе), или клетка млекопитающего, не являющегося приматом. В некоторых вариантах осуществления клетка представляет собой клетку человека, например, клетку печени человека. В способах по изобретению экспрессия PNPLA3 ингибируется в клетке по меньшей мере на 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90 или 95% или до уровня ниже уровня обнаружения анализа.

Способы *in vivo* по изобретению могут включать введение субъекту композиции, содержащей иРНК, где иРНК включает нуклеотидную последовательность, комплементарную по меньшей мере части РНК-транскрипта гена PNPLA3 млекопитающего, которому вводится РНКи агент. Композицию можно вводить любыми способами, известными в данной области техники, включая, без ограничения таковыми, пероральный, внутривентриальный или парентеральный пути, внутривентриальный (например, желудочный, интрапаренхиматозный и интракавернальный), внутривенный, внутримышечный, подкожный, трансдермальный, дыхательный (аэрозольный) и назальный пути, а также ректальное и местное (включая трансбуккальное и подъязычное) введение. В некоторых вариантах осуществления композиции вводят путем внутривенной инфузии или инъекции. В некоторых вариантах осуществления композиции вводят путем подкожной инъекции. В некоторых вариантах осуществления композиции вводят путем внутримышечной инъекции.

В одном аспекте настоящее изобретение также относится к способу ингибирования экспрессии гена PNPLA3 у млекопитающего. Способы включают введение млекопитающему композиции, содержащей дсРНК, нацеленную на ген PNPLA3 в клетке млекопитающего, и поддержание млекопитающего в течение времени, достаточного для деградации транскрипта мРНК гена PNPLA3, что приводит к ингибированию экспрессии гена PNPLA3 в клетке. Снижение экспрессии генов можно оценить любыми способами, известными в данной области техники, например, с помощью qRT-PCR, описанной здесь, например, в Примере 2. Снижение продукции белка можно оценить любыми способами, известными в данной области техники, например, методом ELISA. В некоторых вариантах осуществления образец пункционной биопсии печени служит тканевым материалом для мониторинга снижения экспрессии гена PNPLA3 или белка такового. В других вариантах осуществления образец крови служит образцом субъекта для мониторинга снижения экспрессии белка PNPLA3.

Настоящее изобретение дополнительно обеспечивает способы лечения нуждающегося в этом субъекта, например, субъекта, у которого диагностировано расстройство, связанное с PNPLA3, такое как жировая дистрофия печени (стеатоз), неалкогольный стеатогепатит (NASH), цирроз печени, накопление жира в печени,

воспаление печени, гепатоцеллюлярный некроз, фиброз печени, ожирение или неалкогольная жировая болезнь печени (NAFLD).

Настоящее изобретение дополнительно обеспечивает способы профилактики у субъекта, нуждающегося в этом. Способы лечения по изобретению включают введение иРНК по изобретению субъекту, например, субъекту, у которого было бы полезно снижение экспрессии PNPLA3, в профилактически эффективном количестве иРНК, нацеленной на ген PNPLA3, или фармацевтической композиции, содержащей иРНК, нацеленной на ген PNPLA3.

В одном аспекте настоящее изобретение относится к способам лечения субъекта, имеющего расстройство, при котором было бы полезно снижение экспрессии PNPLA3, например, заболевание, связанное с PNPLA3, такое как хроническое фиброзно-воспалительное заболевание печени (например, рак, например, гепатоцеллюлярная карцинома, неалкогольный стеатогепатит (NASH), цирроз печени, воспаление печени, гепатоцеллюлярный некроз, фиброз печени и неалкогольная жировая болезнь печени (NAFLD)). В одном варианте осуществления хроническое фиброзно-воспалительное заболевание печени представляет собой NASH.

В одном аспекте настоящее изобретение относится к двухцепочечную рибонуклеиновую кислоту (дсРНК) по изобретению для применения в способе лечения субъекта, имеющего расстройство, при котором было бы полезно снижение экспрессии белка 3, содержащего пататин-подобный фосфолипазный домен (PNPLA3).

В другом аспекте настоящее изобретение относится к двухцепочечную рибонуклеиновую кислоту (дсРНК) по изобретению для применения в способе предотвращения по меньшей мере одного симптома у субъекта, страдающего расстройством, при котором было бы полезно уменьшить экспрессию белка 3, содержащего пататин-подобный фосфолипазный домен (PNPLA3).

В одном аспекте настоящее изобретение относится к применению двухцепочечной рибонуклеиновой кислоты (дсРНК) по изобретению в производстве лекарственного средства для лечения субъекта, страдающего расстройством, для которого было бы полезно снижение экспрессию белка 3, содержащего пататин-подобный фосфолипазный домен (PNPLA3).

В другом аспекте настоящее изобретение относится к применению двухцепочечной рибонуклеиновой кислоты (дсРНК) по изобретению в производстве лекарственного средства для предотвращения по меньшей мере одного симптома у субъекта, страдающего заболеванием, при котором было бы полезно уменьшить экспрессию белка 3, содержащего пататин-подобный фосфолипазный домен (PNPLA3).

В одном варианте осуществления лекарственное средство предназначено для введения в дозе от приблизительно 0,01 мг/кг до приблизительно 50 мг/кг. В одном варианте осуществления лекарственное средство предназначено для подкожного введения.

В одном варианте осуществления расстройство представляет собой PNPLA3-

ассоциированное заболевание.

В одном варианте осуществления ассоциированное с PNPLA3 заболевание выбрано из группы, состоящей из жировой дистрофии печени (стеатоза), неалкогольного стеатогепатита (NASH), цирроза печени, накопления жира в печени, воспаления печени, гепатоцеллюлярного некроза, фиброза печени, ожирения или неалкогольной жировой болезни печени (NAFLD).

Используемый здесь термин «неалкогольная жировая болезнь печени», используемый взаимозаменяемо с термином «NAFLD», относится к заболеванию, определяемому наличием макрососудистого стеатоза при приеме внутрь менее 20 г алкоголя в день. NAFLD является наиболее распространенным заболеванием печени в Соединенных Штатах и обычно ассоциируется с резистентностью к инсулину/сахарным диабетом 2 типа и ожирением. NAFLD проявляется стеатозом, стеатогепатитом, циррозом печени и иногда гепатоцеллюлярной карциномой. Обзор NAFLD см. в *Tolman and Dalpiaz (2007) Ther. Clin. Risk. Manag., 3(6):1153-1163*, полное содержание которого включено в настоящее описание посредством ссылки.

Используемые здесь термины «стеатоз», «стеатоз печени» и «жировая болезнь печени» относятся к накоплению триглицеридов и других жиров в клетках печени.

Используемый здесь термин «неалкогольный стеатогепатит» или «NASH» относится к воспалению печени и повреждению, вызванному накоплением жира в печени. NASH принадлежит к группе заболеваний, относящихся к неалкогольной жировой болезни печени (NAFLD). NASH напоминает алкогольную болезнь печени, но возникает у людей, которые употребляют мало алкоголя или вообще не употребляют его. Основным признаком NASH является накопление жира в печени, а также воспаление и повреждение таковой. Большинство людей с NASH чувствуют себя хорошо и не подозревают, что у них проблемы с печенью. Тем не менее, NASH может протекать тяжело и приводить к циррозу, при котором печень необратимо повреждена и покрыта рубцами и больше не способна нормально функционировать. NASH обычно сначала подозревают у человека, у которого обнаруживают повышение показателей печеночных тестов, включенных в рутинные анализы крови, таких как аланинаминотрансфераза (АЛТ) или аспаратаминотрансфераза (АСТ). Если дальнейшая оценка не находит очевидной причины заболевания печени (такой как прием лекарств, вирусный гепатит или чрезмерное употребление алкоголя) и если рентгенография или визуализирующие исследования печени выявляют жир, то подозревается NASH. Единственным средством подтверждения диагноза NASH и отличия его от простой жировой дистрофии печени является биопсия печени.

Используемый здесь термин «цирроз», определяемый гистологически, представляет собой диффузный печеночный процесс, характеризующийся фиброзом и преобразованием нормальной архитектуры печени в структурно аномальные узелки.

иРНК по изобретению можно вводить в виде «свободной иРНК». Свободную иРНК вводят в отсутствие фармацевтической композиции. Свободная иРНК может находиться в

подходящем буферном растворе. Буферный раствор может содержать ацетат, цитрат, проламин, карбонат или фосфат или любую комбинацию таковых. В одном варианте осуществления буферный раствор представляет собой забуференный фосфатом физиологический раствор (PBS). pH и осмолярность буферного раствора, содержащего иРНК, можно отрегулировать таким образом, чтобы он подходил для введения субъекту.

Альтернативно, иРНК по изобретению можно вводить в виде фармацевтической композиции, такой как липосомальная композиция dsРНК.

Субъекты, которым было бы полезно ингибирование экспрессии гена PNPLA3, являются субъектами, предрасположенными к PNPLA3-ассоциированному расстройству или с диагнозом такового, например, с диагнозом: жировая дистрофия печени (стеатоз), неалкогольный стеатогепатит (NASH), цирроз печени, накопление жира в печени, воспаление печени, гепатоцеллюлярный некроз, фиброз печени, ожирение или неалкогольная жировая болезнь печени (NAFLD).

В одном варианте осуществления способ включает введение композиции, представленной в настоящем изобретении, таким образом, что экспрессия гена-мишени PNPLA3 снижается, например, приблизительно на 1, 2, 3, 4, 5, 6, 1-6, 1-3 или 3 -6 месяцев после введения дозы. В некоторых вариантах осуществления композицию вводят один раз каждые 3-6 месяцев.

Предпочтительно, иРНК, пригодные для способов и композиций, описанных в настоящем изобретении, нацелены конкретно на РНК (первичные или процессированные) гена-мишени PNPLA3. Композиции и способы ингибирования экспрессии этих генов с помощью иРНК могут быть предварительно подобраны и выполнены, как описано здесь.

Введение иРНК в соответствии со способами по изобретению может привести к предупреждению или лечению PNPLA3-ассоциированного расстройства, например, жировой дистрофии печени (стеатоза), неалкогольного стеатогепатита (NASH), цирроза печени, накопления жира в печени, воспаления печени, гепатоцеллюлярного некроза, фиброза печени, ожирения или неалкогольной жировой болезни печени (NAFLD).

Субъектам можно вводить терапевтическое количество иРНК, такое как приблизительно от 0,01 мг/кг до приблизительно 200 мг/кг.

иРНК предпочтительно вводят подкожно, т.е. путем подкожной инъекции. Для доставки желаемой дозы иРНК субъекту можно использовать одну или более инъекций. Инъекции можно повторять в течение определенного периода времени.

Введение можно повторять на регулярной основе. В некоторых вариантах осуществления после осуществления начальной схемы лечения лечение можно проводить реже. Регламент повторных доз может включать введение терапевтического количества иРНК на регулярной основе, например, от одного раза в месяц до одного раза в год. В некоторых вариантах осуществления иРНК вводят приблизительно от одного раза в месяц до приблизительно одного раза в три месяца или приблизительно от одного раза в три месяца до приблизительно одного раза в шесть месяцев.

Изобретение дополнительно обеспечивает способы и применение агента иРНК или

фармацевтической композиции такового для лечения субъекта, для которого было бы полезно снижение и/или ингибирование экспрессии гена PNPLA3, например, для субъекта, страдающего заболеванием, связанным с PNPLA3, в комбинации с другими фармацевтическими препаратами и/или другими терапевтическими методами, например, с использованием известных фармацевтических препаратов и/или известных терапевтических методов, таких как, например, те, которые в настоящее время применяются для лечения этих заболеваний.

Соответственно, в некоторых аспектах изобретения способы и применения, включающие только иРНК агент по изобретению, дополнительно включают введение субъекту одного или более дополнительных терапевтических средств.

Средство иРНК и дополнительное терапевтическое средство и/или лечение можно вводить одновременно и/или в одной и той же комбинации, например, парентерально, или дополнительное терапевтическое средство можно вводить как часть отдельной композиции или в разное время и /или другим способом, известным в данной области техники или описанным здесь.

Примеры дополнительных терапевтических средств включают те, которые, как известно, лечат гипертриглицеридемию и другие заболевания, которые вызваны гипертриглицеридемией, связаны с ней или являются ее следствием. Примеры таких агентов включают, без ограничения таковыми, ингибитор HMG-CoA -редуктазы (например, статины), фибрат, секвестрант желчных кислот, никотиновую кислоту, антиагрегант, ингибитор ангиотензинпревращающего фермента, антагонист рецептора ангиотензина II, например, лозартан калия, такой как Cozaar® компании Merck & Co.), ингибитор ацил-CoA-холестерин-ацетилтрансферазы (ACAT), ингибитор абсорбции холестерина, ингибитор белка-переносчика сложного эфира холестерина (CETP), ингибитор микросомального белка-переносчика триглицеридов (MTP), модулятор холестерина, модулятор желчных кислот, агонист рецептора активации пролиферации пероксисом (PPAR), средства генной терапии, составной васкулярный протектант (например, AGI-1067 от Atherogenics), ингибитор гликопротеина IIb/IIIa, аспирин или аспириноподобное соединение, ингибитор ИВАТ (например, S-8921 от Shionogi), ингибитор скваленсинтазы, ингибитор моноцитарного хемоаттрактантного белка (MCP)-I или рыбий жир. Примеры ингибиторов HMG-CoA -редуктазы включают аторвастатин (Pfizer's Lipitor®/Tahor/Sortis/Torvast/Cardyl), правастатин (Bristol-Myers Squibb's Pravachol, Sankyo's Mevalotin/Sanapray), симвастатин (Merck's Zocor®/Sinvacor, Boehringer Ingelheim's Denan, Banyu's Lipovas), ловастатин (Merck's Mevacor/Mevinacor, Bexal's Lovastatina, Cepa; Schwarz Pharma's Liposcler), флувастатин (Novartis' Lescol®/Locol/Lochol, Fujisawa's Cranoc, Solvay's Digaril), церивастатин (Bayer's Lipobay/GlaxoSmithKline's Baycol), розувастатин ( Crestor® компании AstraZeneca) и питивастатин (итавастатин/рисивастатин) (Nissan Chemical, Kowa Kogyo, Sankyo и Novartis). Примеры фибратов включают, например, безафибрат (например, Befizal®/Cedur®/Bezalip® компании Roche, Bezatol компании Kissei), клофибрат



(например, Atromid-S® компании Wyeth), фенофибрат (например, липидил/липантил Фурнье, Tricor® компании Abbott, липантил компании Takeda и другие), гемфиброзил (например, Лопид/Липур компании Pfizer) и ципрофибрат (Модалим® компании Санофи-Синтелабо). Типичные секвестранты желчных кислот включают, например, холестирамин (Bristol-Myers Squibb's Questran® и Questran Light™), колестипол (например, Colestid Pharmacia) и колесевелам (Genzyme/Sankyo's WelChol™). Примеры ниациновой терапии включают, например, составы с немедленным высвобождением, такие как никобид (Nicobid) от Aventis, ниакор (Niacor) от Upsher-Smith, николар (Nicolar) от Aventis и перицит (Percyt) от Sanwakagaku. Составы с пролонгированным высвобождением ниацина включают, например, ниаспан (Niaspan) от Kos Pharmaceuticals и сло-ниацин (Slo-Niacin) от Upsher-Smith. Примеры антиагрегантов включают, например, аспирин (например, аспирин Байера), клопидогрел (Sanofi-Synth elabo/Bristol-Myers Squibb's Plavix) и тиклопидин (например, Sanofi-Synthelabo's Ticlid и Daiichi's Panaldine). Другие подобные аспирину соединения, применимые в комбинации с дсРНК, нацеленной на PNPLA3, включают, например, Asacard (аспирин с медленным высвобождением, Pharmacia) и памикогрел (Kanebo/Angelini Ricerche/CEPA). Примеры ингибиторов ангиотензинпревращающего фермента включают, например, рамиприл (например, Aventis' Altace) и эналаприл (например, Merck & Co.'s Vasotec). Примеры ингибиторов ацил-КоА-холестерин-ацетилтрансферазы (ACAT) включают, например, авасимиб (Pfizer), эфлуцимиб (BioMsrieux Pierre Fabre/Eli Lilly), CS-505 (Sankyo and Kyoto) и SMP-797 (Sumito). Примеры ингибиторов абсорбции холестерина включают, например, эзетимиб (Merck/Schering-Plough Pharmaceuticals Zetia®) и памакезид (Pfizer). Примеры ингибиторов CETP включают, например, Torcetrapib (также называемый CP-529414, Pfizer), JTT-705 (Japan Tobacco) и CETi-I (Avant Immunotherapys). Примеры ингибиторов микросомального белка-переносчика триглицеридов (MTP) включают, например, имплитапид (Bayer), R-103757 (Janssen) и CP-346086 (Pfizer). Другие иллюстративные модуляторы холестерина включают, например, NO-1886 (Otsuka/TAP Pharmaceutical), CI-1027 (Pfizer) и WAY-135433 (Wyeth-Ayerst).

Примеры модуляторов желчных кислот включают, например, HBS-107 (Hisamitsu/Banyu), Btg-511 (British Technology Group), BARI-1453 (Aventis), S-8921 (Shionogi), SD-5613 (Pfizer) и AZD-7806 (AstraZeneca). Примеры агонистов рецептора, активирующего пролиферацию пероксисом (PPAR), включают, например, тесаглитазар (AZ-242) (AstraZeneca), нетоглитазон (MCC-555) (Mitsubishi/Johnson & Johnson), GW-409544 (Ligand Pharmaceuticals/GlaxoSmithKline), GW-501516 (Ligand Pharmaceuticals/GlaxoSmithKline), LY-929 (Ligand Pharmaceuticals и Eli Lilly), LY-465608 (Ligand Pharmaceuticals и Eli Lilly), LY-518674 (Ligand Pharmaceuticals и Eli Lilly) и МК-767 (Merck и Kyorin). Примеры генной терапии включают, например, AdGWEGF 121.10 (GenVec), ApoA1 (UCB Pharma/Groupe Fournier), EG-004 (Trinam) (Ark Therapeutics) и АТФ-связывающий кассетный транспортер-А1 (ABCA1) (CV Therapeutics/Incyte, Aventis, Xenon). Примеры ингибиторов гликопротеина IIb/IIIa включают, например, роксифибан

(также называемый DMP754, Bristol-Myers Squibb), гантофибан (Merck KGaA/Yamanouchi) и кромафибан (Millennium Pharmaceuticals). Примеры ингибиторов скваленсинтазы включают, например, BMS-1884941 (Bristol-Myers Squibb), CP-210172 (Pfizer), CP-295697 (Pfizer), CP-294838 (Pfizer) и TAK-475 (Takeda). Типичным ингибитором МСР-I является, например, RS-504393 (Roche Bioscience). Антиатеросклеротическое средство BO-653 (Chugai Pharmaceuticals) и производное никотиновой кислоты Nuclin (Yamanouchi Pharmaceuticals) также подходят для введения в комбинации с дсРНК, представленной в изобретении. Типичные комбинированные терапии, подходящие для введения с дсРНК, нацеленной на PNPLA3, включают, например, адвикор (ниацин/ловастатин от Kos Pharmaceuticals), амлодипин/аторвастатин (Pfizer) и эзетимиб/симвастатин (например, Vytorin® 10/10, 10/20, 10/40 и 10/80 таблетки от Merck/Schering-Plough Pharmaceuticals). Агенты для лечения гипертриглицеридемии, подходящие для введения в сочетании с дсРНК, нацеленной на PNPLA3, включают, например, ловастатин, Altoprev® Extended-Release Tablets (Andrx Labs), ловастатин Caduet® Tablets (Pfizer), амлодипина безилат, аторвастатин кальция Crestor® Tablets (AstraZeneca), розувастатин кальция Lescol® Capsules (Novartis), флувастатин натрия Lescol® (Reliant, Novartis), флувастатин натрия Lipitor® Tablets (Parke-Davis), аторвастатин кальция Lofibra® Capsules (Gate), ниаспан Niaspan Extended-Release Tablets (Kos), ниацин Pravachol Tablets (Bristol-Myers Squibb), правастатин натрия TriCor® Tablets (Abbott), фенофибрат Vytorin® 10/10 Tablets (Merck/Schering-Plough Pharmaceuticals), эзетимиб, симвастатин таблетки WelChol™ (Sankyo), колесевелама гидрохлорид Zetia® Tablets (Schering), эзетимиб, Zetia® Tablets (Merck/Schering-Plough Pharmaceuticals) и эзетимиб Zocor® Tablets (Merck).

В некоторых вариантах осуществления иРНК, представленная в изобретении, может быть введена, например, с пиридоксином, ингибитором АСЕ (ингибиторами ангиотензинпревращающего фермента), например, беназеприлом (лотензином); антагонистом рецептора ангиотензина II (АРВ) (например, таким как лозартан калия, Merck & Co.'s Cozaar®), например, кандесартаном (Atacand); ингибитором HMG-CoA - редуктазы (например, статином); агентами, связывающими кальций (например, таким как фосфат целлюлозы натрия (Calcibind)); диуретиками, например тиазидными диуретиками, такими как гидрохлоротиазид (микрозид); сенсбилизатором инсулина, таким как агонист PPAR $\gamma$  пиоглитазон, glp-1r агонистом, таким как лираглутид, витамином E, ингибитором SGLT2, ингибитором DPPIV и трансплантатом почки/печени; или с комбинацией любых из вышеперечисленных.

В одном варианте осуществления иРНК агент вводят в комбинации с комбинацией эзетимиб/симвастатин (например, Vytorin® (Merck/Schering-Plough Pharmaceuticals)). В одном варианте осуществления иРНК агент вводят пациенту, а затем дополнительно вводят терапевтический агент (или наоборот). В другом варианте осуществления иРНК агент и дополнительный терапевтический агент вводят одновременно.

иРНК агент и дополнительный терапевтический агент и/или другое средство

лечения можно вводить одновременно и/или в одной и той же комбинации, например, парентерально, или дополнительный терапевтический агент можно вводить как часть отдельной композиции, в другое время и /или другим способом, известным в данной области техники или описанным здесь.

В одном варианте осуществления иРНК агент вводят в комбинации с комбинацией эзетимиб/симвастатин (например, Vytorin® (Merck/Schering-Plough Pharmaceuticals)). В одном варианте осуществления пациенту вводят иРНК агент, а затем пациенту вводят дополнительный терапевтический агент (или наоборот). В другом варианте осуществления иРНК агент и дополнительный терапевтический агент вводят одновременно.

иРНК агент и дополнительный терапевтический агент и/или другое средство лечения можно вводить одновременно и/или в одной и той же комбинации, например, парентерально, или дополнительное терапевтическое средство можно вводить как часть отдельной композиции, в другое время и /или другим способом, известным в данной области техники или описанным здесь.

### **VIII. Комплекты/наборы**

В некоторых аспектах настоящее изобретение относится к наборам, включающим подходящий контейнер, содержащий фармацевтический состав соединения siРНК, например, двухцепочечного соединения siРНК или другого соединения siРНК (например, предшественника, например, более крупного siРНК- соединения, которое может подвергаться процессингу, образуя соединение siРНК или ДНК, кодирующую соединение siРНК, например, двухцепочечное соединение siРНК или соединение ssiРНК, или предшественники таковых).

Такие наборы включают один или более средств на основе dsРНК и инструкции по применению, например, инструкции по введению профилактически или терапевтически эффективного количества агента(ов) dsРНК. средство на основе dsРНК может находиться во флаконе или предварительно наполненном шприце. Наборы могут дополнительно содержать средства для введения агента dsРНК (например, устройство для инъекций, такое как предварительно заполненный шприц) или средства для измерения ингибирования PNPLA3 (например, средства для измерения ингибирования mРНК PNPLA3, белка PNPLA3 и/или активности PNPLA3). Такие средства для измерения ингибирования PNPLA3 могут включать средства для получения образца от субъекта, такого как, например, образец плазмы. Наборы по изобретению могут дополнительно включать средства для определения терапевтически эффективного или профилактически эффективного количества.

В некоторых вариантах осуществления отдельные компоненты фармацевтического состава могут поставляться в одном контейнере, например, во флаконе или предварительно наполненном шприце. В качестве альтернативы может быть желательным предоставить компоненты фармацевтического состава по отдельности в двух или более контейнерах, например, один контейнер для препарата соединения siРНК и, по меньшей

мере, другой контейнер для соединения-носителя. Набор может быть упакован в нескольких различных конфигурациях, например один или более контейнеров в одной коробке. Различные компоненты можно комбинировать, например, в соответствии с инструкциями, прилагаемыми к набору. Компоненты можно комбинировать в соответствии со способом, описанным в настоящем изобретении, например, для приготовления и введения фармацевтической композиции. В комплект также может входить устройство доставки.

Это изобретение дополнительно проиллюстрировано следующими неограничивающими примерами. Полное содержание всех ссылок, патентов и опубликованных патентных заявок, цитируемых в этой заявке, а также неофициальный перечень последовательностей и чертежи полностью включены в настоящее описание посредством ссылки.

## **ПРИМЕРЫ**

### **Пример 1. Синтез иРНК**

#### Источник реагентов

Если источник реагента конкретно не указан в настоящем изобретении, то такой реагент может быть получен от любого поставщика реагентов для молекулярной биологии со стандартом качества/чистоты для применения в молекулярной биологии.

#### Разработка siРНК

siРНК, нацеленные на ген белка 3, содержащий пататин-подобной домен фосфолипазы человека, (PNPLA3) (human: NCBI refseqID NM\_025225.2; NCBI GeneID: 80339), были разработаны с использованием пользовательских сценариев R и Python. мРНК человека NM\_025225.2 REFSEQ имеет длину 2805 оснований.

Подробные списки немодифицированных нуклеотидных последовательностей смысловой и антисмысловой цепей PNPLA3 показаны в Таблицах 2, 4, 6, 8 и 10. Подробные списки модифицированных нуклеотидных последовательностей смысловой и антисмысловой цепей PNPLA3 показаны в Таблицах 3, 5, 7, 9, 11, 21, 24, 27 и 30.

Следует понимать, что во всей заявке название дуплекса без десятичного знака эквивалентно названию дуплекса с десятичным знаком, необходимым для ссылки на номер партии дуплекса. Например, AD-959917 эквивалентен AD-959917.1.

#### Синтез siРНК

siРНК конструировали, синтезировали и получали с использованием способов, известных в данной области техники.

Вкратце, последовательности siРНК синтезировали в масштабе 1 мкмоль с использованием синтезатора Mermade 192 (BioAutomation) с использованием фосфорамидитов на твердых носителях. Твердая подложка представляла собой стекло с контролируемыми порами (500-1000 Å), загруженное специальным лигандом GalNAc (конъюгаты 3'-GalNAc), универсальной твердой подложкой (AM Chemicals) или первым интересующим нуклеотидом. Вспомогательные реагенты для синтеза и стандартные мономеры 2-цианоэтилфосфорамидита (2'-дезоксид-2'-фтор, 2'-О-метил, РНК, ДНК) были

получены от Thermo-Fisher (Milwaukee, WI), Hongene (China), или Chemgenes (Wilmington, MA, USA). Дополнительные фосфорамидитные мономеры были закуплены у коммерческих DMF поставщиков, приготовлены собственными силами или закуплены с использованием индивидуального синтеза у различных компаний. Фосфорамидиты готовили в концентрации 100 мМ либо в ацетонитриле, либо в 9:1 смеси ацетонитрил:DMF и связывали с использованием 5-этилтио-1H-тетразола (ETT, 0,25 М в ацетонитриле) при времени реакции 400 с. Фосфоротиоатные связи были созданы с использованием 100 мМ раствора 3-((диметиламинометилиден)амино)-3H-1,2,4-дитиазол-3-тиона (DDTT, полученного от Chemgenes (Wilmington, MA, USA)) в безводном растворе ацетонитрил/пиридин (9:1 по объему). Время окисления 5 минут. Все последовательности были синтезированы с окончательным удалением группы DMT («DMT-Off»).

По завершении твердофазного синтеза олигорибонуклеотиды на твердом носителе обрабатывали 300 мкл метиламина (40% водный раствор) при комнатной температуре в 96-луночных планшетах в течение приблизительно 2 часов, чтобы обеспечить отщепление от твердого носителя и последующее удаление всех дополнительных лабильных защитных основных групп. Для последовательностей, содержащих любые природные рибонуклеотидные связи (2'-OH), защищенные трет-бутилдиметилсилильной группой (TBDMS), второй этап снятия защиты проводили с использованием TEA.3HF (триэтиламинтригидрофторид). К каждому раствору олигонуклеотида в водном метиламине добавляли 200 мкл диметилсульфоксида (DMSO) и 300 мкл TEA.3HF, и раствор инкубировали в течение приблизительно 30 минут при 60°C. После инкубации планшету давали нагреться до комнатной температуры и неочищенные олигонуклеотиды осаждали добавлением 1 мл 9:1 смеси ацетонитрила:этанола или 1:1 этанола:изопропанола. Затем планшеты центрифугировали при 4°C в течение 45 мин и надосадочную жидкость осторожно декантировали с помощью многоканальной пипетки. Осадок олигонуклеотида ресуспендировали в 20 мМ NaOAc и затем обессоливали с использованием колонки с исключением по размеру HiTrap (5 мл, GE Healthcare) в системе Agilent LC, оснащенной автоматическим пробоотборником, UV -детектором, измерителем проводимости и коллектором фракций. Обессоленные образцы собирали в 96-луночные планшеты, а затем анализировали с помощью LC-MS и UV -спектрометрии для подтверждения идентичности и количественного определения материала соответственно.

Дуплексирование одиночных нитей выполняли на роботе для работы с жидкостями Tecan (Tecan liquid handling robot). Смысловые и антисмысловые одиночные цепи объединяли в эквимольном соотношении до конечной концентрации 10 мкМ в 1x PBS в 96-луночных планшетах, планшет герметизировали, инкубировали при 100°C в течение 10 минут, а затем медленно приводили к комнатной температуре в течение 2-3 часового периода. Концентрацию и идентичность каждого дуплекса подтверждали, а затем таковые использовали для скрининговых анализов *in vitro*.

## **Пример 2. Методы скрининга *in vitro***

### *Культура клеток Her3B и 384-луночные трансфекции*

Клетки Hep3b (ATCC, Manassas, VA) выращивали почти до полного заполнения площади чашки (до сливания) при 37°C в атмосфере с 5% CO<sub>2</sub> в минимальной основной среде Игла Eagle's Minimum Essential Medium (Gibco) с добавлением 10% FBS (ATCC) перед высвобождением из чашки путем трипсинизации. Трансфекцию осуществляли путем добавления 14,8 мкл Opti-MEM плюс 0,2 мкл липофектамина РНКиМах на лунку (Invitrogen, Carlsbad CA. cat # 13778-150) к 5 мкл каждого дуплекса siРНК в отдельную лунку в 96-луночного планшета. Затем смесь инкубировали при комнатной температуре в течение 15 минут. Затем к смеси siРНК добавляли 80 мкл полной питательной среды без антибиотика, содержащей ~2 x 10<sup>4</sup> клеток Hep3В. Клетки инкубировали в течение 24 часов перед очисткой РНК. Эксперименты с однократной дозой проводили при конечной концентрации дуплекса 10 нМ и 0,1 нМ, а эксперименты доза-эффект проводили с использованием 8(восемь) 5-кратных серийных разведений в диапазоне от 10 нМ до 128 пМ.

*Выделение тотальной РНК с использованием набора для выделения мРНК DYNABEADS (Invitrogen™, part #: 610-12)*

Клетки лизировали в 75 мкл буфера для лизиса/связывания, содержащего 3 мкл гранул на лунку, и перемешивали в течение 10 минут на электростатическом шейкере. Этапы промывки были автоматизированы на Biotek EL406 с использованием магнитной опоры для пластин. Гранулы промывали (в 90 мкл) один раз в буфере А, один раз в буфере В и дважды в буфере Е с промежуточными этапами аспирации. После последней аспирации в каждую лунку добавляли полную 10 мкл RT смеси, как описано ниже.

*Синтез кДНК (cDNA) с использованием набора для обратной транскрипции ABI High capacity cDNA reverse transcription kit (Applied Biosystems, Foster City, CA, Cat #4368813)*

В каждую лунку добавляли мастер-микс, состоящий из 1 мкл 10X буфера, 0,4 мкл 25X dNTP, 1 мкл случайных праймеров, 0,5 мкл обратной транскриптазы, 0,5 мкл ингибитора РНКазы и 6,6 мкл H<sub>2</sub>O на реакцию. Планшеты запечатывали, встряхивали 10 минут на электростатическом шейкере, а затем инкубировали при 37°C в течение 2 часов. После этого планшеты перемешивали при 80°C в течение 8 минут.

*ПЦР в реальном времени*

Два микролитра (мкл) кДНК добавляли в мастер-микс, содержащий 0,5 мкл человеческого зонда TaqMan Probe (4326317E), 0,5 мкл человеческого PNPLA3, 2 мкл воды, не содержащей нуклеаз, и 5 мкл мастер-микса Lightcycler 480 probe master mix (Roche Cat # 04887301001) и помещали в лунку 384-луночного планшета (Roche cat # 04887301001). ПЦР в реальном времени проводили в системе LightCycler480 Real Time PCR system (Roche).

Для расчета относительного кратного изменения данные анализировали с использованием метода  $\Delta\Delta C_t$  и нормализовали к анализам, проведенным с клетками, трансфицированными 10 нМ AD-1955, или с ложно трансфицированными клетками (mock). Значения IC<sub>50</sub> рассчитывали с использованием 4-параметрической модели с

использованием XLFit и нормализовали к клеткам, трансфицированным AD-1955 или к ложно-трансфицированным клеткам. Смысловая и бессмысловая последовательности AD-1955 представляют собой: смысловую: cuuAcGcuGAGuAcuucGAdTsdT (SEQ ID NO: 18) и бессмысловую UCGAAGuACUcAGCGuAAGdTsdT (SEQ ID NO: 19).

#### Скрининг с двойной люциферазой и эндогенный скрининг in vitro

Клетки Cos-7 (ATCC, Manassas, VA) выращивали почти до полного заполнения площади чашки (до слияния) при 37°C в атмосфере 5% CO<sub>2</sub> в среде DMEM (ATCC) с добавлением 10% FBS, а затем таковые высвобождали из планшета путем трипсинизации. Эксперименты с однократной дозой проводили при 50 нМ, 10 нМ, 1 нМ и 0,1 нМ. Трансфекции плазмиды siPHK и psiCHECK2-PNPLA3 (GenBank Accession No. NM\_025225.2) проводили с плазмидой, содержащей 3'-нетранслируемую область (UTR). Трансфекцию проводили путем добавления 5 мкл дуплексов siPHK и 5 мкл (5 нг) плазмиды psiCHECK2 на лунку вместе с 4,9 мкл Opti-MEM плюс 0,1 мкл липофектамина 2000 (Lipofectamine 2000) на лунку (Invitrogen, Carlsbad CA. cat # 13778-150) и затем инкубировали при комнатной температуре в течение 15 минут. Затем смесь добавляли к клеткам, которые ресуспендировали в 35 мкл свежей полной среды. Трансфицированные клетки инкубировали при 37°C в атмосфере 5% CO<sub>2</sub>.

Через сорок восемь часов после трансфекции siPHKs и плазмиды psiCHECK2 измеряли уровни люциферазы Firefly (контроль трансфекции) и Renilla (слитая с последовательностью-мишенью PNPLA3). Сначала от клеток удаляли среду. Затем измеряли активность люциферазы Firefly, добавляя в каждую лунку по 20 мкл люциферазного реагента Dual-Glo® (Dual-Glo® Luciferase Reagent), равного объему культуральной среды, и перемешивали. Смесь инкубировали при комнатной температуре в течение 30 минут перед измерением люминесценции (500 нм) на Spectramax (Molecular Devices) для обнаружения сигнала люциферазы Firefly. Активность люциферазы Renilla измеряли путем добавления 20 мкл реагента Dual-Glo® Stop & Glo® (Dual-Glo® Stop & Glo® Reagent) при комнатной температуре в каждую лунку, и планшеты инкубировали в течение 10-15 минут перед повторным измерением люминесценции для определения сигнала люциферазы Renilla. Реагент Dual-Glo® Stop & Glo® гасит сигнал люциферазы светлячка (firefly) и обеспечивает устойчивую люминесценцию для реакции люциферазы Renilla. Активность siPHK определяли путем нормализации сигнала Renilla (PNPLA3) к сигналу Firefly (контроль) в каждой лунке. Затем оценивали величину активности siPHK по отношению к клеткам, которые были трансфицированы тем же вектором, но не были обработаны siPHK или были обработаны нецелевой siPHK. Все трансфекции были выполнены с n=4.

#### Культура клеток и трансфекции

Клетки трансфицировали, добавляя 4,9 мкл Opti-MEM плюс 0,1 мкл РНКиМАХ на лунку (Invitrogen, Carlsbad CA. cat # 13778-150) к 5 мкл дуплексов siPHK на лунку, с 4 повторениями каждого дуплекса siPHK, в лунку 384-луночного планшета и инкубировали при комнатной температуре в течение 15 минут. Затем к смеси siPHK добавляли 40 мкл

СРЕДЫ, содержащей  $\sim 5 \times 10^3$  клеток. Клетки инкубировали в течение 24 часов перед очисткой РНК. Эксперименты проводились при концентрациях 50 нМ, 10 нМ, 1 нМ и 0,1 нМ. Эксперименты по трансфекции проводили на клетках Cos7.

*Выделение общей РНК с использованием набора DYNABEADS mRNA Isolation Kit*

РНК выделяли с использованием автоматизированного протокола на платформе BioTek-EL406 с использованием DYNABEAD (Invitrogen, cat#61012). Вкратце, в планшет с клетками добавляли 70 мкл лизирующего/связывающего буфера и 10 мкл лизирующего буфера, содержащего 3 мкл магнитных гранул. Планшеты инкубировали на электромагнитном шейкере в течение 10 минут при комнатной температуре, затем собирали магнитные гранулы и удаляли супернатант. Затем связанную с шариками РНК промывали 2 раза 150 мкл промывочного буфера А и один раз промывочным буфером В. Затем гранулы промывали 150 мкл элюирующего буфера, повторно собирали и удаляли надосадочную жидкость.

*Синтез кДНК с использованием набора для обратной транскрипции ABI High capacity cDNA reverse transcription kit (Applied Biosystems, Foster City, CA, Cat #4368813)*

Десять мкл мастер-микса, содержащего 1 мкл 10X Буфера, 0,4 мкл 25X dNTP, 1 мкл 10x случайных праймеров, 0,5 мкл обратной транскриптазы, 0,5 мкл ингибитора РНКазы и 6,6 мкл  $H_2O$  на реакцию, добавляли к РНК, выделенной выше. Планшеты запечатывали, перемешивали и инкубировали на электромагнитном шейкере в течение 10 минут при комнатной температуре, а затем инкубировали в течение 2 часов при 37°C.

*ПЦР в реальном времени*

Два мкл кДНК добавляли к мастер-миксу, содержащему 0,5 мкл человеческого или мышиноного зонда GAPDH TaqMan Probe (ThermoFisher cat 4352934E или 4351309), 0,5 мкл соответствующего зонда PNPLA3 (коммерчески доступен, например, от Thermo Fisher) и 5 мкл мастер-микса Lightcycler 480 probe master mix (Roche Cat # 04887301001) на лунку в 384-луночных планшетах (Roche cat # 04887301001). ПЦР в реальном времени проводили в системе LightCycler480 Real Time PCR system (Roche). Каждый дуплекс тестировали с  $N=4$ , и данные нормализовали к клеткам, трансфицированным нецелевой контрольной siРНК. Для расчета относительного кратного изменения данные ПЦР в реальном времени анализировали с использованием метода  $\Delta\Delta Ct$  и нормализовали к анализам, проведенным с клетками, трансфицированными нецелевой контрольной miРНК.

Результаты скрининга средств на основе dsРНК, перечисленных в Таблицах 2 и 3, в клетках Cos7 показаны в Таблице 12. Результаты скрининга средств на основе dsРНК, перечисленных в Таблицах 4 и 5, в клетках Cos7 показаны в Таблице 13. Результаты скрининга средств на основе dsРНК, перечисленных в Таблицах 4 и 5, в клетках Нер3В показаны в Таблице 14. Результаты скрининга средств на основе dsРНК, перечисленных в Таблицах 6 и 7, в клетках Cos7 показаны в Таблице 15. Результаты скрининга средств на основе dsРНК, перечисленных в Таблицах 8 и 9, в клетках Cos7 показаны в Таблице 16. Результаты скрининга средств на основе dsРНК, перечисленных в Таблицах 8 и 9, в клетках Нер3В показаны в Таблице 17. Результаты скрининга агентов dsРНК,



перечисленных в Таблицах 10 и 11, в клетках Cos7 показаны в Таблице 18. Результаты скрининга средств на основе dsРНК, перечисленных в Таблицах 10 и 11, в клетках Нер3В показаны в Таблице 19.

Таблица 1. Аббревиатуры мономеров нуклеотидов, используемые в представлении последовательностей нуклеиновых кислот. Понятно, что эти мономеры, когда они присутствуют в олигонуклеотиде, взаимно связаны 5'-3'-фосфодиэфирными связями.

Аббревиатура	Нуклеотид(ы)
A	Аденозин-3'-фосфат
Ab	бета-L-аденозин-3'-фосфат
Abs	бета-L-аденозин-3'-фосфотиоат
Af	2'-фтораденозин-3'-фосфат
Afs	2'-фтораденозин-3'-фосфотиоат
As	аденозин-3'-фосфотиоат
C	цитидин-3'-фосфат
Cb	бета-L-цитидин-3'-фосфат
Cbs	бета-L-цитидин-3'-фосфотиоат
Cf	2'-фторцитидин-3'-фосфат
Cfs	2'-фторцитидин-3'-фосфотиоат
Cs	цитидин-3'-фосфотиоат
G	гуанозин-3'-фосфат
Gb	бета-L-гуанозин-3'-фосфат
Gbs	бета-L-гуанозин-3'-фосфотиоат
Gf	2'-фторгуанозин-3'-фосфат
Gfs	2'-фторгуанозин-3'-фосфотиоат
Gs	гуанозин-3'-фосфотиоат
T	5'-метилуридин-3'-фосфат
Tf	2'-фтор-5-метилуридин-3'-фосфат
Tfs	2'-фтор-5-метилуридин-3'-фосфотиоат
Ts	5-метилуридин-3'-фосфотиоат
U	Уридин-3'-фосфат
Uf	2'-фторуридин-3'-фосфат
Ufs	2'-фторуридин-3'-фосфотиоат
Us	уридин-3'-фосфотиоат
N	любой нуклеотид, модифицированный или немодифицированный
a	2'-О-метиладенозин-3'-фосфат

as	2'-О-метиладенозин-3'-фосфотиоат
c	2'-О-метилцитидин-3'-фосфат
cs	2'-О-метилцитидин-3'-фосфотиоат
g	2'-О-метилгуанозин-3'-фосфат
gs	2'-О-метилгуанозин-3'-фосфотиоат
t	2'-О-метил-5-метилуридин-3'-фосфат
ts	2'-О-метил-5-метилуридин-3'-фосфотиоат
u	2'-О-метилуридин-3'-фосфат
us	2'-О-метилуридин-3'-фосфотиоат
s	тиофосфатная связь
L10	N-(холестерилкарбоксамидокапроил)-4-гидроксипролинол (Нур-С6-Chol)
L96	N-[трис(GalNAc-алкил)-амидодеcanoил]-4-гидроксипролинол
Y34	(Нур-(GalNAc-алкил)3)
Y44	2-гидроксиметил-тетрагидрофуран-4-метокси-3-фосфат (основная 2'-ОМе фураноза)
(Agn)	инвертированная абазовая ДНК (2-гидроксиметилтетрагидрофуран-5-фосфат)
(Cgn)	Аденозингликолевая нуклеиновая кислота (GNA)
(Ggn)	Цитидингликолевая нуклеиновая кислота (GNA)
(Tgn)	Нуклеиновая кислота гуанозингликоля (GNA)
P	S-изомер тимидингликолевой нуклеиновой кислоты (GNA)
VP	Фосфат
dA	Винил-фосфонат
dAs	2'-дезоксаденозин-3'-фосфат
dC	2'-дезоксаденозин-3'-фосфотиоат
dCs	2'-дезоксцитидин-3'-фосфат
dG	2'-дезоксцитидин-3'-фосфотиоат
dGs	2'-дезоксигуанозин-3'-фосфат
dT	2'-дезоксигуанозин-3'-фосфотиоат
dTs	2'-дезокситимидин-3'-фосфат
dU	2'-дезокситимидин-3'-фосфотиоат
dUs	2'-деоксиуридин
(C2p)	2'-деоксиуридин-3'-фосфотиоат

(G2p)	цитидин-2`-фосфат
(U2p)	гуанозин-2`-фосфат
(A2p)	уридин-2`-фосфат
(Chd)	аденозин-2`-фосфат
(Ahd)	2'-О-гексадецилцитидин-3'-фосфат
(Ghd)	2'-О-гексадецил-аденозин-3'-фосфат
(Uhd)	2'-О-гексадецилгуанозин-3'-фосфат

Таблица 2. Немодифицированные смысловые и антисмысловые последовательности средств на основе дсРНК PNPLA3

Название Дуплекса	Смысловая последовательность от 5' до 3'	SEQ ID NO:	Позиции по NM_025225.2	Антисмысловая последовательность от 5' до 3'	SEQ ID NO:	Позиции по NM_025225.2
AD-517197.1	CAUGAGCAAGAUUUGCAACUU	20	1187-1207	AAGUUGCAAAUCUUGCUCUAUGUA	109	1185-1207
AD-516851.1	UGAUGCCAAAACAACCAUCAU	21	701-721	AUGAUGGUUGUUUUGGCAUCAAU	110	699-721
AD-516748.1	AAAGACGAAGUCGUGGAUGCU	22	576-596	AGCAUCCACGACUUCGUCUUUGG	111	574-596
AD-517234.1	GGUGGAUACAUGAGCAAGAUU	23	1179-1199	AAUCUUGCUCUAUGUAUCCACC UU	112	1177-1199
AD-517354.1	UCCAGAU AUGCCCGACGAUGU	24	1301-1321	ACAUCGTCGGGCAUAUCUGGAG	113	1299-1321
AD-517257.1	AACUUGC UACCCA UUAGGAUU	25	1203-1223	AAUCCUAAUGGGUAGCAAGUUGC	114	1201-1223
AD-516739.1	UCGGUCCAAAGACGAAGUCGU	26	569-589	ACGACUTC GUCUUUGGACCGAAA	115	567-589
AD-517258.1	ACUUGC UACCCA UUAGGAU AU	27	1204-1224	AUAUCCTAAUGGGUAGCAAGUUG	116	1202-1224
AD-516629.1	CUUAAGCAAGU UCCUCCGACU	28	440-460	AGUCGGAGGAACUUGC UUAAGUU	117	438-460
AD-516972.1	CUGGGAGAGAU AUGCCUUCGU	29	873-893	ACGAAGGCAUAUCUCUCCCAGCA	118	871-893
AD-517623.1	UCCCAUCUUUGUGCAGCUACU	30	1669-1689	AGUAGCTGCACAAAGAUGGGA AA	119	1667-1689
AD-516733.1	CUGACUUUCGGUCCAAAGACU	31	562-582	AGUCUUTGGACCGAAAGUCAGAC	120	560-582
AD-517985.1	ACACCUUUUUCACCUAACUAU	32	2178-2198	AUAGUUAGGUGAAAAGGUGUUC	121	2176-2198
AD-516827.1	GUGAGUGACAACGUACCCU UU	33	678-698	AAAGGGTACGUUGUCACUCACUC	122	676-698
AD-516917.1	CAAGCUCAGUCUACGCCUCUU	34	797-817	AAGAGGCGUAGACUGAGCUUGGU	123	795-817

AD-516973.1	UGGGAGAGAU AUGCCUUCG AU	35	874-894	AUCGAAGGCAUAUCUCUCCCA GC	124	872-894
AD-516978.1	GAGAU AUGCCUUCGAGGAU AU	36	879-899	AUAUCCTCGAAGGCAUAUCUC UC	125	877-899
AD-517310.1	GUGGAAUCUGCCA UUGCGA UU	37	1257-1277	AAUCGCAAUGGCAGAUUCCAC AG	126	1255-1277
AD-516828.1	UGAGUGACAACGUACCCU CU	38	679-699	AGAAGGGUACGUUGUCACUCA CU	127	677-699
AD-517249.1	CUUGC UACCCA UAGGAUA AU	39	1205-1225	AUUAUCCUAAUGGGUAGCAA GUU	128	1203-1225
AD-517196.1	GUGGAUACAUGAGCAAGAU UU	40	1180-1200	AAAUCUTGCUCAUGUAUCCAC CU	129	1178-1200
AD-517322.1	AUUGC GAUUGUCCAGAGAC UU	41	1269-1289	AAGUCUCUGGACAAUCGCAAU GG	130	1267-1289
AD-517319.1	GCCAUUGC GAUUGUCCAGA GU	42	1266-1286	ACUCUGGACAAUCGCAAUGGC AG	131	1264-1286
AD-516822.1	GAGGAGUGAGUGACAACGU AU	43	673-693	AUACGUTGUCACUCACUCCUC CA	132	671-693
AD-516826.1	AGUGAGUGACAACGUACCC UU	44	677-697	AAGGGUACGUUGUCACUCACU CC	133	675-697
AD-516824.1	GGAGUGAGUGACAACGUAC CU	45	675-695	AGGUACGUUGUCACUCACUCC UC	134	673-695
AD-517517.1	UUGGGCAAUAAAGUACCU GU	46	1545-1565	AGCAGGTACUUAUUGCCCAA GA	135	1543-1565
AD-517758.1	AUGCGUUA AUUCAGCUGGU UU	47	1824-1844	AAACCAGCUGAAUUAACGCAU GC	136	1822-1844
AD-516940.1	CAGGGAACCUCUACCUUCU CU	48	820-840	AGAGAAGGUAGAGGUUCCCU GUG	137	818-840
AD-517318.1	UGCCA UUGCGAUUGUCCAG AU	49	1265-1285	AUCUGGACAAUCGCAAUGGCA GA	138	1263-1285
AD-517321.1	CAUUGC GAUUGUCCAGAGA CU	50	1268-1288	AGUCUCTGGACAAUCGCAAUG GC	139	1266-1288
AD-516747.1	CAAAGACGAAGUCGUGGAU GU	51	575-595	ACAUCCACGACUUCGUCUUUG GA	140	573-595

AD-516737.1	CUUUCGGUCCAAAGACGAA GU	52	566-586	ACUUCGTCUUUGGACCGAAAG UC	141	564-586
AD-516742.1	CGGUCCAAAGACGAAGUCG UU	53	570-590	AACGACTUCGUCUUUGGACCG AA	142	568-590
AD-516977.1	AGAGAU AUGCCUUCGAGGA UU	54	878-898	AAUCCUCGAAGGCAUAUCUCU CC	143	876-898
AD-516823.1	AGGAGUGAGUGACAACGUA CU	55	674-694	AGUACGTUGUCACUCACUCCU CC	144	672-694
AD-516871.1	AUCUGCCC UAAAGUCAAGU CU	56	750-770	AGACUUGACUUUAGGGCAGA UGU	145	748-770
AD-516771.1	CUUCUACAGUGGCCUUAUC CU	57	620-640	AGGAUAAGGCCACUGUAGAA GGG	146	618-640
AD-517757.1	CAUGC GUUAAUUCAGCUGG UU	58	1823-1843	AACCAGCUGAAUUAACGCAUG CU	147	1821-1843
AD-516745.1	UCCAAAGACGAAGUCGUGG AU	59	573-593	AUCCACGACUUCGUCUUUGGA CC	148	571-593
AD-517830.1	GUGGCCCUAUUAAUGGUCA GU	60	1895-1915	ACUGACCAUUAUAGGGCCAC GA	149	1893-1915
AD-516970.1	UGCUGGGAGAGAU AUGCCU UU	61	871-891	AAAGGCAUAUCUCUCCCAGCA CC	150	869-891
AD-517768.1	UCAGCUGGUUGGGAAAUGA CU	62	1834-1854	AGUCAUTUCCCAACCAGCUGA AU	151	1832-1854
AD-517259.1	UUGC UACCCAUUAGGAUAA UU	63	1206-1226	AAUUAUCCUAAUGGGUAGCA AGU	152	1204-1226
AD-516979.1	AGAU AUGCCUUCGAGGAUA UU	64	880-900	AAUAUCCUCGAAGGCAUAUCU CU	153	878-900
AD-516971.1	GCUGGGAGAGAU AUGCCU CU	65	872-892	AGAAGGCAUAUCUCUCCCAGC AC	154	870-892
AD-517838.1	UUAAUGGUCAGACUGUCC AU	66	1904-1924	AUGGAACAGUCUGACCAUUA UA	155	1902-1924
AD-516743.1	GGUCCAAAGACGAAGUCGU GU	67	571-591	ACACGACUUCGUCUUUGGACC GA	156	569-591
AD-516980.1	GAU AUGCCUUCGAGGAUAU UU	68	881-901	AAAUUCCUCGAAGGCAUAUC UC	157	879-901

AD-517771.1	GCUGGUUGGGAAAUGACAC CU	69	1837-1857	AGGUGUCAUUUCCCAACCAGC UG	158	1835-1857
AD-516772.1	UUCUACAGUGGCCUUAUCC CU	70	621-641	AGGGUAUAGGCCACUGUAGA AGG	159	619-641
AD-517836.1	UAUUAUUGGUCAGACUGUU CU	71	1902-1922	AGAACAGUCUGACCAUUAUA GG	160	1900-1922
AD-516741.1	UUCGGUCCAAAGACGAAGU CU	72	568-588	AGACUUCGUCUUUGGACCGAA AG	161	566-588
AD-517353.1	UCCAGAU AUGCCCGACGA UU	73	1300-1320	AAUCGUCGGGCAUAUCUGGAA GC	162	1298-1320
AD-517979.1	UUUAGAACACCUUUUUCAC CU	74	2172-2192	AGGUGAAAAGGUGUUCUAA AAU	163	2170-2192
AD-516937.1	GCACAGGGAACCUCUACCU UU	75	817-837	AAAGGUAGAGGUUCCCUGUGC AG	164	815-837
AD-516976.1	GAGAGUAUGCCUUCGAGG AU	76	877-897	AUCCUCGAAGGCAUAUCUCUC CC	165	875-897
AD-516872.1	UCUGCCCUAAAGUCAAGUC CU	77	751-771	AGGACUTGACUUUAGGGCAGA UG	166	749-771
AD-517256.1	CAACUUGC UACCAUUAAGG AU	78	1202-1222	AUCCUAAUGGGUAGCAAGUU GCA	167	1200-1222
AD-516825.1	GAGUGAGUGACAACGUACC CU	79	676-696	AGGGUACGUUGUCACUCACUC CU	168	674-696
AD-516735.1	GACUUUCGGUCCAAAGACG AU	80	564-584	AUCGUCTUUGGACCGAAAGUC AG	169	562-584
AD-516588.1	GGCCAGGAGUCGGAACA UU	81	398-418	ACAAUGTUCCGACUCCUGGCC UU	170	396-418
AD-516738.1	UUUCGGUCCAAAGACGAAG UU	82	567-587	AACUUCGUCUUUGGACCGAAA GU	171	565-587
AD-517314.1	AAUCUGCCAUUGCGAUUGU CU	83	1261-1281	AGACAATCGCAAUGGCAGAUU CC	172	1259-1281
AD-517805.1	CAGAGGGUCCCUACUGAC UU	84	1870-1890	AAGUCAGUAAGGGACCCUCUG CA	173	1868-1890
AD-517685.1	UUGGUUUUAUGAAAAGCUA GU	85	1751-1771	ACUAGCTUUUCAUAAAACCAA CU	174	1749-1771

AD-517831.1	UGGCCCUAAUAAUGGUCAG AU	86	1896-1916	AUCUGACCAUAAUAGGGCCA CG	175	1894-1916
AD-516830.1	AGUGACAACGUACCCUUCA UU	87	681-701	AAUGAAGGGUACGUUGUCAC UCA	176	679-701
AD-517837.1	AUUA AUGGUCAGACUGUUC CU	88	1903-1923	AGGAACAGUCUGACCAUUAU AG	177	1901-1923
AD-517633.1	GUGCAGCUACCUCGCAUU GU	89	1679-1699	ACAAUGCGGAGGUAGCUGCAC AA	178	1677-1699
AD-516855.1	GCCAAAACAACCAUCACCG UU	90	705-725	AACGGUGAUGGUUGUUUUGG CAU	179	703-725
AD-516688.1	AACGUUCUGGUGUCUGACU UU	91	549-569	AAAGUCAGACACCAGAACGUU UU	180	547-569
AD-516630.1	UUAAGCAAGUCCUCGAC AU	92	441-461	AUGUCGGAGGAACUUGCUUA AGU	181	439-461
AD-516835.1	CAACGUACCCUUCAUUGAU GU	93	686-706	ACAUCAUGAAGGGUACGUU GUC	182	684-706
AD-516832.1	UGACAACGUACCCUUCAU GU	94	683-703	ACAUGAAGGGUACGUUGUC ACU	183	681-703
AD-517834.1	CCCUAAUAAUGGUCAGACU GU	95	1899-1919	ACAGUCTGACCAUUAUAGGG CC	184	1897-1919
AD-516734.1	UGACUUUCGGUCCAAAGAC GU	96	563-583	ACGUCUTUGGACCGAAAGUCA GA	185	561-583
AD-517228.1	GACAAAGGUGGAUACAUGA GU	97	1173-1193	ACUCAUGUAUCCACCUUUGUC UU	186	1171-1193
AD-516736.1	ACUUUCGGUCCAAAGACGA AU	98	565-585	AUUCGUCUUUGGACCGAAAGU CA	187	563-585
AD-517646.1	CGCAUUGCUGUGUAGUGAC CU	99	1692-1712	AGGUCACUACACAGCAAUGCG GA	188	1690-1712
AD-517744.1	UCUAAUACAUCAGCAUGCG UU	100	1810-1830	AACGCATGCUGAUGUAUUAGA GU	189	1808-1830
AD-517509.1	ACUUCUUCUUGGGCAAUAA AU	101	1537-1557	AUUUAUTGCCCAAGAAGAAGU UC	190	1535-1557
AD-517746.1	UAAUACAUCAGCAUGCGUU AU	102	1812-1832	AUAACGCAUGCUGAUGUAUU AGA	191	1810-1832



AD-516752.1	ACGAAGUCGUGGAUGCCUUGU	103	580-600	ACAAGGCAUCCACGACUUCGUCU	192	578-600
AD-516746.1	CCAAAGACGAAGUCGUGGAUU	104	574-594	AAUCCACGACUUCGUCUUUGGAC	193	572-594
AD-517227.1	AGACAAAGGUGGAUACAUGAU	105	1172-1192	AUCAUGTAUCCACCUUUGUCUU	194	1170-1192
AD-516751.1	GACGAAGUCGUGGAUGCCUUU	106	579-599	AAAGGCAUCCACGACUUCGUCUU	195	577-599
AD-517042.1	CAUCCUCAGAAGGGAUGGAUU	107	964-984	AAUCCATCCCUUCUGAGGAUGAC	196	962-984
AD-517571.1	UGAGUCACUUGAGGAGGCGAU	108	1617-1637	AUCGCCTCCUCAAGUGACUCA	197	1615-1637

**Таблица 3. Модифицированные смысловые и антисмысловые последовательности средств на основе дсРНК PNPLA3**

Название дуплекса	Смысловая последовательность от 5' до 3'	SEQ ID NO:	Антисмысловая последовательность от 5' до 3'	SEQ ID NO:	целевая последовательность мРНК от 5' до 3'	SEQ ID NO:
AD-517197.1	csasugagCfaAfGfAfuugcaacu uL96	198	asAfsguug(Cgn)aaacuUfgCfucaugs usa	287	UACAUGAGCAAGAUUUGCAACUU	376
AD-516851.1	usgsaugcCfaAfAfAfaaccauca uL96	199	asUfsgaug(Ggn)uuguuuUfgGfcaucas asu	288	AUUGAUGCCAAAACAACCAUCAC	377
AD-516748.1	asasagacGfaAfGfUfcguggaugc uL96	200	asGfscauc(Cgn)acgacuUfcGfucuuus gsg	289	CCAAAGACGAAGUCGUGGAUGCC	378
AD-517234.1	gsgsuggaUfaCfAfUfgagcaagau uL96	201	asAfsucuu(Ggn)cucaugUfaUfccaccs usu	290	AAGGUGGAUACAUGAGCAAGAUU	379
AD-517354.1	uscscagaUfaUfGfCfccgacgaug uL96	202	asCfsaucg(Tgn)cgggcaUfaUfcuggasa sg	291	CUUCCAGAU AUGCCCGA CGAUGU	380
AD-517257.1	asascuugCfuAfCfCfcauuaggau uL96	203	asAfsuccu(Agn)augggUfgCfaaguus gsc	292	GCAACUUGC UACCCAUAU AGGAUA	381
AD-516739.1	uscsggucCfaAfAfGfacgaagucg uL96	204	asCfsgacu(Tgn)cgucuuUfgGfaccgasa sa	293	UUUCGGUCCAAGACGAAGUCGU	382
AD-517258.1	ascsuugcUfaCfCfCfauuaggau uL96	205	asUfsaucc(Tgn)aaugggUfaGfcaagusu sg	294	CAACUUGC UACCCAUAU AAGGAUAA	383
AD-516629.1	csusuaagCfaAfGfUfuccuccgac	206	asGfsucgg(Agn)ggaacuUfgCfuuaags	295	AACUUAAGCAAGUUCU	384

	uL96		usu		CCGACA	
AD-516972.1	csusgggaGfaGfAfUfaugccuucg uL96	207	asCfsgaag(Ggn)cauauCfcUfccagsc sa	296	UGCUGGGAGAGAU AUGC CUUCGA	385
AD-517623.1	uscscCauCfuUfUfGfugcagcuac uL96	208	asGfsuagc(Tgn)gcacaaAfgAfugggasa sa	297	UUUCCCAUCUUUGUGCA GCUACC	386
AD-516733.1	csusgacuUfuCfGfGfuccaaagac uL96	209	asGfsucuu(Tgn)ggaccgAfaAfgucags asc	298	GUCUGACUUUCGGUCCA AAGACG	387
AD-517985.1	ascSaccuUfuUfUfCfaccuaacua uL96	210	asUfsaguu(Agn)ggugaaAfaAfggugus usc	299	GAACACCUUUUUCACCU AACUAA	388
AD-516827.1	gsusgaguGfaCfAfAfcguacccuu uL96	211	asAfsaggg(Tgn)acguugUfcAfcucacs usc	300	GAGUGAGUGACAACGUA CCCUUC	389
AD-516917.1	csasagcuCfaGfUfCfuacgccucu uL96	212	asAfsaggg(Cgn)guagacUfgAfgcuugs gsu	301	ACCAAGCUCAGUCUACG CCUCUG	390
AD-516973.1	usgsggagAfgAfUfAfugccuucga uL96	213	asUfscgaa(Ggn)gcgauCfuCfuccasg sc	302	GCUGGGAGAGAU AUGCC UUCGAG	391
AD-516978.1	gsasgauaUfgCfCfUfucgaggaua uL96	214	asUfsaucc(Tgn)cgaaggCfaUfaucucu sc	303	GAGAGAU AUGCCUUCGA GGAUUAU	392
AD-517310.1	gsusggaaUfcUfGfCfcuauugcgau uL96	215	asAfsucgc(Agn)auggcaGfaUfuccacsa sg	304	CUGUGGAAUCUGCCA UUGCGAUU	393
AD-516828.1	usgsagugAfcAfAfCfugacccuuc uL96	216	asGfsaagg(Ggn)uacguuGfuCfacucas csu	305	AGUGAGUGACAACGUAC CCUUCA	394
AD-517249.1	csusugcuAfcCfCfAfuaggauaa uL96	217	asUfsuaucc(Cgn)uauaggGfuAfgcaags usu	306	AACUUGCUACCCA UAGGAUAAU	395
AD-517196.1	gsusggauAfcAfUfGfagcaagauu uL96	218	asAfsaucc(Tgn)gcucuuGfuAfuaccasc su	307	AGGUGGAUACAUGAGCA AGAUUU	396
AD-517322.1	asusugcgAfuUfGfUfccagagacu uL96	219	asAfsugcu(Cgn)uggacaAfuCfcaaus gsg	308	CCAUUGCGAUUGUCCAG AGACUG	397
AD-517319.1	gscscauuGfcGfAfUfuguccagag uL96	220	asCfsucug(Ggn)acaauCfcAfauggcsa sg	309	CUGCCAUUGCGAUUGUC CAGAGA	398
AD-516822.1	gsasggagUfgAfGfUfgacaacgua uL96	221	asUfsacgu(Tgn)gucacuCfaCfuccusc sa	310	UGGAGGAGUGAGUGACA ACGUAC	399
AD-516826.1	asgsugagUfgAfCfAfacguacccu uL96	222	asAfsgggu(Agn)cguuguCfaCfucacus csc	311	GGAGUGAGUGACAACGU ACCCUU	400
AD-516824.1	gsgsagugAfgUfGfAfaacguacc	223	asGfsguac(Ggn)uugucaCfuCfacuccs	312	GAGGAGUGAGUGACAAC	401

	uL96		usc		GUACCC	
AD-517517.1	ususgggcAfaUfAfAfaguaccugc uL96	224	asGfscagg(Tgn)acuuuaUfuGfcccaasg sa	313	UCUUGGGCAAUAAAGUA CCUGCU	402
AD-517758.1	asusgcguUfaAfUfUfcagcugguu uL96	225	asAfsacca(Ggn)cugaauUfaAfcgcausg sc	314	GCAUGCGUUAUUCAGC UGGUUG	403
AD-516940.1	csasgggaAfcCfUfCfuaccuucuc uL96	226	asGfsagaa(Ggn)guagagGfuUfccugs usg	315	CACAGGGAACCUCUACC UUCUCU	404
AD-517318.1	usgsccauUfgCfGfAfuuguccaga uL96	227	asUfscugg(Agn)caaucgCfaAfuggcas gsa	316	UCUGCCAUUGCGAUUGU CCAGAG	405
AD-517321.1	csasuugcGfaUfUfGfuccagagac uL96	228	asGfsucuc(Tgn)ggacaaUfcGfcaaugsg sc	317	GCCAUUGCGAUUGUCCA GAGACU	406
AD-516747.1	csasaagaCfgAfAfGfucguggaug uL96	229	asCfsaucc(Agn)cgacuuCfgUfcuuugs gsa	318	UCCAAAGACGAAGUCGU GGAUGC	407
AD-516737.1	csusuucgGfuCfCfAfaagacgaag uL96	230	asCfsuucg(Tgn)cuuuggAfcCfcaaags usc	319	GACUUUCGGUCCAAAGA CGAAGU	408
AD-516742.1	csgsguccAfaAfGfAfcgaagucgu uL96	231	asAfcgac(Tgn)ucgucuUfuGfgaccgsa sa	320	UUCGGUCCAAAGACGAA GUCGUG	409
AD-516977.1	asgsagauAfuGfCfCfuucgaggau uL96	232	asAfsuccu(Cgn)gaagcAfuAfucucus csc	321	GGAGAGAU AUGCCUUCG AGGAUA	410
AD-516823.1	asgsgaguGfaGfUfGfacaacguac uL96	233	asGfsuacg(Tgn)ugucacUfcAfcuccusc sc	322	GGAGGAGUGAGUGACAA CGUACC	411
AD-516871.1	asuscugcCfcUfAfAfagucaaguc uL96	234	asGfsacuu(Ggn)acuuuaGfgGfcgaus gsu	323	ACAUCUGCCCUAAAGUC AAGUCC	412
AD-516771.1	csusucuaCfaGfUfGfgccuuaucc uL96	235	asGfsgaua(Agn)ggccacUfgUfagaags gsg	324	CCCUUCUACAGUGGCCU UAUCCC	413
AD-517757.1	csasugcgUfuAfAfUfucagcuggu uL96	236	asAfsccag(Cgn)ugaauuAfaCfcaugsc su	325	AGCAUGCGUUAUUCAG CUGGUU	414
AD-516745.1	uscscaaaGfaCfGfAfagucgugga uL96	237	asUfscac(Ggn)acuuugUfcUfuuggas csc	326	GGUCCAAAGACGAAGUC GUGGAU	415
AD-517830.1	gsusggccCfuAfUfUfaauggucag uL96	238	asCfsugac(Cgn)auuaauAfgGfgccacsg sa	327	UCGUGGCCCUAUUAAUG GUCAGA	416
AD-516970.1	usgscuggGfaGfAfGfauaugccuu uL96	239	asAfsaggc(Agn)uauucUfcCfcagcasc sc	328	GGUGCUGGGAGAGAUAU GCCUUC	417
AD-517768.1	uscscagcuGfgUfUfGfggaaaugac	240	asGfsucau(Tgn)ucccaaCfcAfcgugas	329	AUUCAGCUGGUUGGGAA	418

	uL96		su		AUGACA	
AD-517259.1	ususgcuuCfcCfAfUfuaggauau uL96	241	asAfsuuau(Cgn)cuaaugGfgUfagcaas gsu	330	ACUUGCUACCCAUUAGG AUA AUG	419
AD-516979.1	asgsauauGfcCfUfUfcgaggauau uL96	242	asAfsuauC(Cgn)ucgaagGfcAfuaucus csu	331	AGAGAU AUGCCUUCGAG GAU AUU	420
AD-516971.1	gscsugggAfgAfGfAfuaugccuuc uL96	243	asGfsaagg(Cgn)auaucuCfuCfccagcsa sc	332	GUGCUGGGAGAGAU AUG CCUUCG	421
AD-517838.1	ususaugGfuCfAfGfacuguucca uL96	244	asUfsggaa(Cgn)agucugAfcCfauuaas usa	333	UAUUA AUGGUCAGACUG UCCAG	422
AD-516743.1	gsgsuccaAfaGfAfCfgaagucgug uL96	245	asCfsacga(Cgn)uucgucUfuUfggaccs gsa	334	UCGGUCCAAAGACGAAG UCGUGG	423
AD-516980.1	gsasuaugCfcUfUfCfaggauauu uL96	246	asAfsauau(Cgn)cucgaaGfgCfauaucsu sc	335	GAGAU AUGCCUUCGAGG AU AUUU	424
AD-517771.1	gscsugguUfgGfGfAfaaugacacc uL96	247	asGfsgugu(Cgn)auuuccCfaAfccagcs usg	336	CAGCUGGUUGGGAAAUG ACACCA	425
AD-516772.1	ususcuacAfgUfGfGfccuuauccc uL96	248	asGfsggau(Agn)aggccaCfuGfuagaas gsg	337	CCUUCUACAGUGGCCUU AUCCCU	426
AD-517836.1	usasuuauUfgGfUfCfagacuguuc uL96	249	asGfsaaca(Ggn)ucugacCfaUfuaauasg sg	338	CCUAUUA AUGGUCAGAC UGU UCC	427
AD-516741.1	ususcgguCfcAfAfAfgacgaaguc uL96	250	asGfsacuu(Cgn)gucuuuGfgAfccgaas asg	339	CUUUCGGUCCAAAGACG AAGUCG	428
AD-517353.1	ususccagAfuAfUfGfcccgacgau uL96	251	asAfsucgu(Cgn)gggcauAfuCfuggaas gsc	340	GCUUCCAGAU AUGCCCG ACGAUG	429
AD-517979.1	ususuagaAfcAfCfCfuuuuacacc uL96	252	asGfsguga(Agn)aaagguGfuUfcuaaas asu	341	AUUUUAGAACACCUUUU UCACCU	430
AD-516937.1	gscsacagGfgAfAfCfcucuaccuu uL96	253	asAfsaggu(Agn)gagguuCfcCfuguges asg	342	CUGCACAGGGAACCUCU ACCUUC	431
AD-516976.1	gsasgagaUfaUfGfCfcuucgagga uL96	254	asUfscuc(Ggn)aaggcaUfaUfcucusc sc	343	GGGAGAGAU AUGCCUUC GAGGAU	432
AD-516872.1	uscsugccCfuAfAfAfgucaaguucc uL96	255	asGfsgacu(Tgn)gacuuuAfgGfgcagas usg	344	CAUCUGCCCUAAAGUCA AGUCCA	433
AD-517256.1	csasacuuGfcUfAfCfccauuagga uL96	256	asUfscua(Agn)uggguaGfcAfaguugs csa	345	UGCAACUUGCUACCCA UAGGAU	434
AD-516825.1	gsasgugaGfuGfAfCfaacguacc	257	asGfsggua(Cgn)guugucAfcUfcacucs	346	AGGAGUGAGUGACAACG	435

	uL96		csu		UACCCU	
AD-516735.1	gsascuuuCfgGfUfCfcaaagacga uL96	258	asUfscguc(Tgn)uuggacCfgAfaagucsa sg	347	CUGACUUUCGGUCCAAA GACGAA	436
AD-516588.1	gsgscagGfaGfUfCfpgaacauug uL96	259	asCfsaaug(Tgn)uccgacUfcCfuggccsu su	348	AAGGCCAGGAGUCGGAA CAUUGG	437
AD-516738.1	ususucggUfcCfAfAfagacgaagu uL96	260	asAfscuuc(Ggn)ucuuugGfaCfcgaaas gsu	349	ACUUUCGGUCCAAAGAC GAAGUC	438
AD-517314.1	asasucugCfcAfUfUfgcgauuguc uL96	261	asGfsacaa(Tgn)cgcaauGfgCfagauusc sc	350	GGAAUCUGCCAUUGCGA UUGUCC	439
AD-517805.1	csasgaggGfuCfCfCfuacugacu uL96	262	asAfsguca(Ggn)uaagggAfcCfcucugs csa	351	UGCAGAGGGUCCCUUAC UGACUG	440
AD-517685.1	ususgguuUfuAfUfGfaaaagcuag uL96	263	asCfsuagc(Tgn)uuucauAfaAfaccaasc su	352	AGUUGGUUUUAUGAAAA GCUAGG	441
AD-517831.1	usgsgcccUfaUfUfAfauggucaga uL96	264	asUfscuga(Cgn)cauuuaUfaGfggccasc sg	353	CGUGGCCCUAUUAAUGG UCAGAC	442
AD-516830.1	asgsugacAfaCfGfUfaccuucau uL96	265	asAfsugaa(Ggn)gguacgUfuGfucacus csa	354	UGAGUGACAACGUACCC UUCAU	443
AD-517837.1	asusuaauGfgUfCfAfgacuguucc uL96	266	asGfsgaac(Agn)gucugaCfcAfuuaaus asg	355	CUAUUAAUGGUCAGACU GUCCA	444
AD-517633.1	gsusgcagCfuAfCfCfuccgcauug uL96	267	asCfsaaug(Cgn)ggagguAfgCfugcacs asa	356	UUGUGCAGCUACCUCG CAUUGC	445
AD-516855.1	gscscaaaAfcAfAfCfcauaccgu uL96	268	asAfscggu(Ggn)augguuGfuUfuuggcs asu	357	AUGCCAAAACAACCAUC ACCGUG	446
AD-516688.1	asascguuCfuGfGfUfgucugacuu uL96	269	asAfsaguc(Agn)gacaccAfgAfacguus usu	358	AAAACGUUCUGGUGUCU GACUUU	447
AD-516630.1	ususaagcAfaGfUfUfccuccgaca uL96	270	asUfsgucg(Ggn)aggaacUfuGfcuuas gsu	359	ACUUAAGCAAGUCCUC CGACAG	448
AD-516835.1	csasacguAfcCfCfUfucuuugaug uL96	271	asCfsauca(Agn)ugaaggGfuAfcguugs usc	360	GACAACGUACCCUUCAU UGAUGC	449
AD-516832.1	usgsacaaCfgUfAfCfccuucauug uL96	272	asCfsaaug(Agn)aggguaCfgUfugucas csu	361	AGUGACAACGUACCCUU CAUUGA	450
AD-517834.1	cscscuauUfaAfUfGfgucagacug uL96	273	asCfsaguc(Tgn)gaccuUfaAfuagggsc sc	362	GGCCCUAUUAAUGGUCA GACUGU	451
AD-516734.1	usgsacuuUfcGfGfUfccaaagacg	274	asCfsgucu(Tgn)uggaccGfaAfagucasg	363	UCUGACUUUCGGUCCAA	452

	uL96		sa		AGACGA	
AD-517228.1	gsascaaaGfgUfGfGfauacaugag uL96	275	asCfsucau(Ggn)uauccaCfcUfuugucs usu	364	AAGACAAAGGUGGAUAC AUGAGC	453
AD-516736.1	ascsuuucGfgUfCfCfaaagacgaa uL96	276	asUfsucgu(Cgn)uuuggaCfcGfaaagus csa	365	UGACUUUCGGUCCAAAG ACGAAG	454
AD-517646.1	csgscauuGfcUfGfUfguagugacc uL96	277	asGfsguca(Cgn)uacacaGfcAfaugcgsg sa	366	UCCGCAUUGCUGUGUAG UGACCC	455
AD-517744.1	uscsuaauAfcAfUfCfagcaugcg uL96	278	asAfscgca(Tgn)gcugauGfuAfuuagas gsu	367	ACUCUAAUACAUCAGCA UGCGUU	456
AD-517509.1	ascsuucuUfcUfUfGfggcauauaa uL96	279	asUfsuuau(Tgn)gcccaaGfaAfgaagusu sc	368	GAACUUCUUCUUGGGCA AUAAAG	457
AD-517746.1	usasauacAfuCfAfGfcaugcgua uL96	280	asUfsaacg(Cgn)augcugAfuGfuauuas gsa	369	UCUAAUACAUCAGCAUG CGUUA	458
AD-516752.1	ascsgaagUfcGfUfGfgaugccuug uL96	281	asCfsaagg(Cgn)auccacGfaCfuucgusc su	370	AGACGAAGUCGUGGAUG CCUUGG	459
AD-516746.1	cscsaaagAfcGfAfAfgucguggau uL96	282	asAfsucca(Cgn)gacuucGfuCfuuggs asc	371	GUCCAAAGACGAAGUCG UGGAUG	460
AD-517227.1	asgsacaaAfgGfUfGfgauacauga uL96	283	asUfscaug(Tgn)auccacCfuUfugucusu su	372	AAAGACAAAGGUGGAUA CAUGAG	461
AD-516751.1	gsascgaaGfuCfGfUfggauccuu uL96	284	asAfsaggc(Agn)uccacGfcUfucgucs usu	373	AAGACGAAGUCGUGGAU GCCUUG	462
AD-517042.1	csasuccuCfaGfAfAfgggauggau uL96	285	asAfsucca(Tgn)ccuucUfgAfggaugsa sc	374	GUCAUCCUCAGAAGGGA UGGAUC	463
AD-517571.1	usgsagucAfcUfUfGfaggaggcga uL96	286	asUfscgcc(Tgn)ccucaaGfuGfacucasc sa	375	UGUGAGUCACUUGAGGA GGCGAG	464

**Таблица 4. Немодифицированные смысловые и антисмысловые последовательности средств на основе дсРНК PNPLA3**

Название Дуплекса	Смысловая последовательность от 5' до 3'	SEQ ID NO:	Позиции по NM_025225.2	Антисмысловая последовательность от 5' до 3'	SEQ ID NO:	Позиции по NM_025225. 2
AD-67605.6	ACCUGUUGAAUUUUGUAUUAU	465	2245-2265	AUAAUACAAAUUCAACAGG UAA	493	2243-2265
AD-520101.1	UACCUGUUGAAUUUUGUAUUU	466	2244-2264	AAAUACAAAUUCAACAGG AAC	494	2242-2264

AD-520098.1	GUUGUUACCGUUGAAUUUUU	467	2239-2259	AAAAAUUCAACAGGUAACAA CGC	495	2237-2259
AD-67575.6	UUACCGUUGAAUUUUGUAUU	468	2243-2263	AAUACAAAUAUCAACAGGUA ACA	496	2241-2263
AD-520467.1	UUGAACCGGCUUAUUUUCUU	469	2714-2734	AAGAAAUAAGCCAGGUUCA AGU	497	2712-2734
AD-520064.1	CUUUUUCACCUAACUAAAAUU	470	2182-2202	AAUUUUAGUUAGGUGAAAAA GGU	498	2180-2202
AD-520099.1	UGUUACCGUUGAAUUUUGUU	471	2241-2261	AACAAAUAUCAACAGGUAAC AAC	499	2239-2261
AD-520466.1	CUUGAACCGGCUUAUUUUCU	472	2713-2733	AGAAAUAAGCCAGGUUCAA GUU	500	2711-2733
AD-519351.1	AGGAUAAUGUCUUAUGUAAUU	473	1218-1238	AAUUACAUAAGACAUUAUCC UAA	501	1216-1238
AD-520065.1	UUUUUCACCUAACUAAAAUUAU	474	2183-2203	AUAUUUUAGUUAGGUGAAAA AGG	502	2181-2203
AD-520069.1	CACCUAACUAAAAUAAUGUUU	475	2188-2208	AAACAUAUUUUAGUUAGGU GAA	503	2186-2208
AD-519828.1	CAUCAGCAUGCGUUAAUUCAU	476	1817-1837	AUGAAUUAACGCAUGCUGAU GUA	504	1815-1837
AD-520035.1	GGUAACAAGAUGAUAAUCUAU	477	2146-2166	AUAGAUUAUCAUCUUGUUAC CCC	505	2144-2166
AD-520067.1	UUUCACCUAACUAAAAUAAUU	478	2185-2205	AAUUAUUUUAGUUAGGUGAA AAA	506	2183-2205
AD-75289.2	UUCACCUAACUAAAAUAAUGU	479	2186-2206	ACAUUAUUUUAGUUAGGUGA AAA	507	2184-2206
AD-520125.1	GUGAGAUGUUAGUAGAAUAAU	480	2274-2294	AUUAUUCUACUACAUCUCA CUG	508	2272-2294
AD-520018.1	GAUAACCUUGACUACUAAAAU	481	2110-2130	AUUUUAGUAGUCAAGGUUAU CAU	509	2108-2130
AD-520062.1	ACCUUUUUCACCUAACUAAAU	482	2180-2200	AUUUAGUUAGGUGAAAAAGG UGU	510	2178-2200
AD-519754.1	GAGCUGAGUUGGUUUUAUGAU	483	1743-1763	AUCAUAAAACCAACUCAGCU CAG	511	1741-1763

AD-520097.1	CGUUGUUACCUGUUGAAUUUU	484	2238-2258	AAAAUUCAACAGGUAACAAC GCU	512	2236-2258
AD-520352.1	UGAGAUUGCACCAUUUCAUUU	485	2544-2564	AAUGAAAUGGUGCAAUCUC AGC	513	2542-2564
AD-519755.1	AGCUGAGUUGGUUUUAUGAAU	486	1744-1764	AUUCAUAAAACCAACUCAGC UCA	514	1742-1764
AD-520063.1	CCUUUUUCACCUAACUAAAAU	487	2181-2201	AUUUUAGUUAGGUGAAAAAG GUG	515	2179-2201
AD-520066.1	UUUUCACCUAACUAAAAUAAU	488	2184-2204	AUUUUUUAGUUAGGUGAAA AAG	516	2182-2204
AD-520068.1	UCACCUAACUAAAAUAAUGUU	489	2187-2207	AACAUUAAUUUAGUUAGGUG AAA	517	2185-2207
AD-520465.1	ACUUGAACCUGGCUAAUUUUU	490	2712-2732	AAAAUAAGCCAGGUUCAAG UUG	518	2710-2732
AD-519592.1	UCUUCUUGGGCAAUAAAGUAU	491	1540-1560	AUACUUUUAUUGCCCAAGAAG AAG	519	1538-1560
AD-519591.1	UUCUUCUUGGGCAAUAAAGUU	492	1539-1559	AACUUUUAUUGCCCAAGAAGA AGU	520	1537-1559

**Таблица 5. Модифицированные смысловые и антисмысловые последовательности средств на основе дсРНК PNPLA3**

<b>Название дуплекса</b>	<b>Смысловая последовательность от 5' до 3'</b>	<b>SEQ ID NO:</b>	<b>Антисмысловая последовательность от 5' до 3'</b>	<b>SEQ ID NO:</b>	<b>целевая последовательность мРНК от 5' до 3'</b>	<b>SEQ ID NO:</b>
AD-67605.6	ascscuguUfgAfAfUfuuuuguau uauL96	521	asUfsaauAfcAfAfaauuCfaAfcaggus asa	549	UUACCUGUUGAAUUUUGU AUUAU	577
AD-520101.1	usascugUfuGfAfAfuuuuugua uuuL96	522	asAfsauuCfaAfAfaauuCfaCfagguas asc	550	GUUACCUGUUGAAUUUUG UAUUA	578
AD-520098.1	gsusuguuAfcCfUfGfuugaauu uuuL96	523	asAfsaaaUfuCfAfacagGfuAfacaacs gsc	551	GCGUUGUUACCUGUUGAA UUUUG	579
AD-67575.6	ususaccuGfuUfGfAfauuuugu auuL96	524	asAfsuacAfaAfAfuucaAfcAfgguaa sesa	552	UGUUACCUGUUGAAUUUU GUAUU	580
AD-520467.1	ususgaacCfuGfGfCfuuuuuuu cuuL96	525	asAfsгааAfaUfAfagccAfgGfuucaas gsu	553	ACUUGAACCUGGCUAAUU UUCUG	581



AD-520064.1	csusuuuuCfaCfCfUfaacuaaaa uuL96	526	asAfsuuuUfaGfUfuaggUfgAfaaaag sgsu	554	ACCUUUUUCACCUAACUA AAAUA	582
AD-520099.1	usgsuuacCfuGfUfUfgaauuuu guuL96	527	asAfscaaAfaUfUfcaacAfgGfuaacas asc	555	GUUGUUACCUGUUGAAUU UUGUA	583
AD-520466.1	csusugaaCfcUfGfGfcuuuuuu ucuL96	528	asGfsaaaAfuAfAfgccaGfgUfucaags usu	556	AACUUGAACCUGGCUUAU UUUCU	584
AD-519351.1	asgsgauaAfuGfUfCfuuauugua auuL96	529	asAfsuuaCfaUfAfagacAfuUfauccus asa	557	UUAGGAUAAUGUCUUAUG UAAUG	585
AD-520065.1	ususuuucAfcCfUfAfacuaaaau auL96	530	asUfsauuUfuAfGfuuagGfuGfaaaaa sgsg	558	CCUUUUUCACCUAACUAA AAUAA	586
AD-520069.1	csasccuaAfcUfAfAfaauaauugu uuL96	531	asAfsacaUfuAfUfuuuuGfuUfaggug sasa	559	UUCACCUAACUAAAUA UGUUU	587
AD-519828.1	csasucagCfaUfGfCfguuaauuc auL96	532	asUfsgaaUfuAfAfcgcaUfgCfugaug susa	560	UACAUCAGCAUGCGUUA UUCAG	588
AD-520035.1	gsgsuaacAfaGfAfUfgauaaucu auL96	533	asUfsagaUfuAfUfcaucUfuGfuuacc scsc	561	GGGGUAACAAGAUGAUAA UCUAC	589
AD-520067.1	ususucacCfuAfAfcfuaaaauaa uuL96	534	asAfsuuaUfuUfUfaguUfgGfugaaa sasa	562	UUUUUCACCUAACUAAA UAAUG	590
AD-75289.2	ususcaccUfaAfCfUfaaaauaau guL96	535	asCfsauuAfuUfUfuaguUfaGfgugaa sasa	563	UUUUCACCUAACUAAA AAUGU	591
AD-520125.1	gsusgagaUfgUfUfAfguagaau aaL96	536	asUfsuauUfcUfAfcuaaCfaUfcucacs usg	564	CAGUGAGAUGUUAGUAGA AUAAG	592
AD-520018.1	gsasuaacCfuUfGfAfcuacuaaaa auL96	537	asUfsuuuAfgUfAfgucaAfgGfuuauc sas	565	AUGAUAAACCUUGACUACU AAAAA	593
AD-520062.1	ascscuuuUfuCfAfcfuaacuaa auL96	538	asUfsuuaGfuUfAfggugAfaAfaaggu sgsu	566	ACACCUUUUUCACCUAAC UAAAA	594
AD-519754.1	gsasgcugAfgUfUfGfguuuuau gauL96	539	asUfscuuAfaAfAfccaaCfuCfagcucs asg	567	CUGAGCUGAGUUGGUUUU AUGAA	595
AD-520097.1	csgsuuguUfaCfCfUfguugaau uuuL96	540	asAfsaaUfcAfAfcaggUfaAfcaacgs csu	568	AGCGUUGUUACCUGUUGA AUUUU	596
AD-520352.1	usgsagauUfgCfAfcfcauuucau uuL96	541	asAfsaugAfaAfUfggugCfaAfucuca sgsc	569	GCUGAGAUUGCACCAUUU CAUUC	597
AD-519755.1	asgscugaGfuUfGfGfuuuuauug aaL96	542	asUfsucaUfaAfAfaccaAfcUfcagcus csa	570	UGAGCUGAGUUGGUUUUA UGAAA	598

AD-520063.1	cscsuuuuUfcAfCfCfuaacuaaa auL96	543	asUfsuuuAfgUfUfagguGfaAfaaagg susg	571	CACCUUUUCACCUAACU AAAAU	599
AD-520066.1	ususuucaCfcUfAfAfcuaaaaau auL96	544	asUfsuauUfuUfAfguaaGfgUfgaaaa sasg	572	CUUUUUCACCUAACUAAA AUAAU	600
AD-520068.1	uscaccuAfaCfUfAfaaaauaug uuL96	545	asAfscauUfaUfUfuuaagUfuAfgguga sasa	573	UUUCACCUAACUAAAAUA AUGUU	601
AD-520465.1	ascsuugaAfcCfUfGfgcuuuuu uuL96	546	asAfsaaaUfaAfGfccagGfuUfcaagus usg	574	CAACUUGAACCGGCUUA UUUUC	602
AD-519592.1	uscuuuUfgGfGfCfaaaaaagu auL96	547	asUfsacuUfuAfUfugccCfaAfgaagas asg	575	CUUCUUCUUGGGCAAUAA AGUAC	603
AD-519591.1	ususcuuUfuGfGfGfcauaaaag uuL96	548	asAfscauUfaUfUfgcccAfaGfaagaas gsu	576	ACUUCUUCUUGGGCAAUA AAGUA	604

**Таблица 6. Немодифицированные смысловые и антисмысловые последовательности средств на основе дсРНК PNPLA3**

Название Дуплекса	Смысловая последовательность от 5' до 3'	SEQ ID NO:	Позиции по NM_025225.2	Антисмысловая последовательность от 5' до 3'	SEQ ID NO:	Позиции по NM_025225.2
AD-521420.1	GGAUAAUGUCUUAUGUAAU	605	1219-1237	AUUACAUAAGACAUUAUCC	712	1219-1237
AD-520973.1	GAGUGAGUGACAACGUACU	606	676-694	AGUACGUUGUCACUCACUC	713	676-694
AD-521124.1	GGAGAGAUAAUGCCUUCGAU	607	876-894	AUCGAAGGCAUAUCUCUCC	714	876-894
AD-521486.1	UGGUGACAUGGCUUCCAGU	608	1288-1306	ACUGGAAGCCAUGUCACCA	715	1288-1306
AD-520903.1	GAAGUCGUGGAUGCCUUGU	609	582-600	ACAAGGCAUCCACGACUUC	716	582-600
AD-520972.1	GGAGUGAGUGACAACGUAAU	610	675-693	AUACGUUGUCACUCACUCC	717	675-693
AD-521421.1	GAUAAUGUCUUAUGUAAU	611	1220-1238	AAUUACAUAAGACAUUAUC	718	1220-1238
AD-521840.1	GGUUUUAUGAAAAGCUAGU	612	1753-1771	ACUAGCUUUUCAUAAAACC	719	1753-1771
AD-521003.1	CAAAACAACCAUCACCGUU	613	707-725	AACGGUGAUGGUUGUUUUG	720	707-725
AD-521129.1	GAU AUGCCUUCGAGGAUAAU	614	881-899	AUAUCCUCGAAGGCAUAUC	721	881-899
AD-521465.1	CCAUUGCGAUUGUCCAGAU	615	1267-1285	AUCUGGACAUCGCAAUGG	722	1267-1285
AD-521086.1	ACAGGGAACCUCUACCUUU	616	819-837	AAAGGUAGAGGUUCCUGU	723	819-837
AD-521409.1	UGC UACCAUUAAGGAUAAU	617	1207-1225	AUUAUCCUAAUGGGUAGCA	724	1207-1225
AD-522178.1	CCUGUUGAAUUUUGUAAUU	618	2246-2264	AAAUACA AAAUUCACAGG	725	2246-2264
AD-520974.1	AGUGAGUGACAACGUACCU	619	677-695	AGGUACGUUGUCACUCACU	726	677-695
AD-520902.1	CGAAGUCGUGGAUGCCUUU	620	581-599	AAAGGCAUCCACGACUUCG	727	581-599

AD-522140.1	CUUUUUCACCUAACUAAAU	621	2182-2200	AUUUAGUUAGGUGAAAAAG	728	2182-2200
AD-521410.1	GCUACCCAUAUAGGAUAAU	622	1208-1226	AAUUAUCCUAAUGGGUAGC	729	1208-1226
AD-522548.1	GAACCUGGCUUAUUUCUU	623	2716-2734	AAGAAAUAAGCCAGGUUC	730	2716-2734
AD-521002.1	CCAAAACAACCAUCACCGU	624	706-724	ACGGUGAUGGUUGUUUUGG	731	706-724
AD-522176.1	UUACCUGUUGAAUUUUGUU	625	2243-2261	AACAAAUAUCAACAGGUAA	732	2243-2261
AD-520926.1	CUACAGUGGCCUUAUCCCU	626	623-641	AGGGUAUAGGCCACUGUAG	733	623-641
AD-521895.1	CUAAUACAUCAGCAUGCGU	627	1811-1829	ACGCAUGCUGAUGUAUUAG	734	1811-1829
AD-521499.1	CCAGAU AUGCCCGACGAUU	628	1302-1320	AAUCGUCGGGCAUAUCUGG	735	1302-1320
AD-521466.1	CAUUGCGAUUGUCCAGAGU	629	1268-1286	ACUCUGGACAAUCGCAAUG	736	1268-1286
AD-521140.1	GAGGAUAUUUGGAUGCAUU	630	892-910	AAUGCAUCCAAAUAUCCUC	737	892-910
AD-520892.1	GGUCCAAAGACGAAGUCGU	631	571-589	ACGACUUCGUCUUUGGACC	738	571-589
AD-520976.1	UGAGUGACAACGUACCCUU	632	679-697	AAGGGUACGUUGUCACUCA	739	679-697
AD-521457.1	GGAAUCUGCCAUUGCGAUU	633	1259-1277	AAUCGCAAUGGCAGAUUCC	740	1259-1277
AD-521127.1	GAGUAUAGCCUUCGAGGAU	634	879-897	AUCCUCGAAGGCAUAUCUC	741	879-897
AD-522145.1	UCACCUAACUAAAUAUUU	635	2187-2205	AAUUAUUUUAGUUAGGUGA	742	2187-2205
AD-520984.1	ACGUACCCUUCAUUGAUGU	636	688-706	ACAUCAAUGAAGGGUACGU	743	688-706
AD-521997.1	CUGUCCAGCAUGAGGUUU	637	1916-1934	AAACCUCAUGCUGGAACAG	744	1916-1934
AD-522174.1	UGUUACCUGUUGAAUUUUU	638	2241-2259	AAAAAUUCAACAGGUACA	745	2241-2259
AD-522545.1	UUGAACCUGGCUUAUUUUU	639	2714-2732	AAAAUAAGCCAGGUUCA	746	2714-2732
AD-521979.1	GGCCCAUUAUUGGUCAGU	640	1897-1915	ACUGACCAUUAUAGGGCC	747	1897-1915
AD-520891.1	CGGUCCAAAGACGAAGUCU	641	570-588	AGACUUCGUCUUUGGACCG	748	570-588
AD-521833.1	CUGAGUUGGUUUUAUGAAU	642	1746-1764	AUUCAUAAAACCAACUCAG	749	1746-1764
AD-521461.1	UCUGCCAUUGCGAUUGUCU	643	1263-1281	AGACAAUCGCAAUGGCAGA	750	1263-1281
AD-521386.1	GAUACAUGAGCAAGAUUU	644	1182-1200	AAAUUCUUGCUCUAUGUAUCC	751	1182-1200
AD-521123.1	GGGAGAGAU AUGCCUUCGU	645	875-893	ACGAAGGCAUAUCUCUCCC	752	875-893
AD-520899.1	AGACGAAGUCGUGGAUGCU	646	578-596	AGCAUCCACGACUUCGUCU	753	578-596
AD-521089.1	GGGAACCUCUACCUUCUCU	647	822-840	AGAGAAGGUAGAGGUUCCC	754	822-840
AD-521407.1	CUUGCUCACCAUUAAGGAUU	648	1205-1223	AAUCCUAAUGGGUAGCAAG	755	1205-1223
AD-520898.1	AAGACGAAGUCGUGGAUGU	649	577-595	ACAUCCACGACUUCGUCUU	756	577-595
AD-521378.1	ACAAAGGUGGAUACAUGAU	650	1174-1192	AUCAUGUAUCCACCUUUGU	757	1174-1192
AD-521500.1	CAGAU AUGCCCGACGAUGU	651	1303-1321	ACAUCGUCGGGCAUAUCUG	758	1303-1321

AD-521798.1	CAUUGCUGUGUAGUGACCU	652	1694-1712	AGGUCACUACACAGCAAUG	759	1694-1712
AD-521902.1	UCAGCAUGCGUUAUUUCAU	653	1819-1837	AUGAAUUAACGCAUGCUGA	760	1819-1837
AD-521896.1	UAAUACAUCAGCAUGCGUU	654	1812-1830	AACGCAUGCUGAUGUAUUA	761	1812-1830
AD-521989.1	AUGGUCAGACUGUUCAGU	655	1907-1925	ACUGGAACAGUCUGACCAU	762	1907-1925
AD-520896.1	CAAAGACGAAGUCGUGGAU	656	575-593	AUCCACGACUUCGUCUUUG	763	575-593
AD-69024.2	CCUAAAUAAAUAUGUUU	657	2190-2208	AAACAUUAUUUUAGUUAGG	764	2190-2208
AD-522146.1	CACCUAACUAAAUAUGU	658	2188-2206	ACAUUAUUUUAGUUAGGUG	765	2188-2206
AD-522432.1	AGAUUGCACCAUUUCAUUU	659	2546-2564	AAAUGAAAUGGUGCAAUCU	766	2546-2564
AD-521020.1	CUGCCCUAAAGUCAAGUCU	660	752-770	AGACUUGACUUUAGGGCAG	767	752-770
AD-521668.1	CUUCUUGGGCAAUAAGUU	661	1541-1559	AACUUUAUUGCCCAAGAAG	768	1541-1559
AD-522097.1	UAACCUUGACUACUAAAU	662	2112-2130	AUUUUAGUAGUCAAGGUUA	769	2112-2130
AD-520999.1	AUGCCAAAACAACCAUCAU	663	703-721	AUGAUGGUUGUUUUGGCAU	770	703-721
AD-521832.1	GCUGAGUUGGUUUUAUGAU	664	1745-1763	AUCAUAAAACCAACUCAGC	771	1745-1763
AD-520894.1	UCCAAAGACGAAGUCGUGU	665	573-591	ACACGACUUCGUCUUUGGA	772	573-591
AD-522144.1	UUCACCUAACUAAAUAU	666	2186-2204	AUUAUUUUAGUUAGGUGAA	773	2186-2204
AD-521408.1	UUGCUCACCAUUAGGAU	667	1206-1224	AUAUCCUAAUGGGUAGCAA	774	1206-1224
AD-521128.1	AGAU AUGCCUUCGAGGAU	668	880-898	AAUCCUCGAAGGCAUAUCU	775	880-898
AD-521980.1	GCCCUAUUA AUGGUCAGAU	669	1898-1916	AUCUGACCAUUAUAGGGC	776	1898-1916
AD-521406.1	ACUUGCUCACCAUUAGGAU	670	1204-1222	AUCCUAAUGGGUAGCAAGU	777	1204-1222
AD-521131.1	UAUGCCUUCGAGGAU	671	883-901	AAUAUCCUCGAAGGCAUA	778	883-901
AD-521909.1	GCGUUA AUUCAGCUGGUUU	672	1826-1844	AAACCAGCUGAAUUAACGC	779	1826-1844
AD-521954.1	GAGGGUCCCUACUGACUU	673	1872-1890	AAGUCAGUAAGGGACCCUC	780	1872-1890
AD-520872.1	CGUUCUGGUGUCUGACUUU	674	551-569	AAAGUCAGACACCAGAACG	781	551-569
AD-522142.1	UUUUCACCUAACUAAAUAU	675	2184-2202	AAUUUUAGUUAGGUGAAAA	782	2184-2202
AD-520994.1	CAUUGAUGCCAAAACAACU	676	698-716	AGUUGUUUUGGCAUCAUUG	783	698-716
AD-520886.1	ACUUUCGGUCCAAAGACGU	677	565-583	ACGUCUUUGGACCGAAAGU	784	565-583
AD-521987.1	UAAUGGUCAGACUGUCCU	678	1905-1923	AGGAACAGUCUGACCAUUA	785	1905-1923
AD-521988.1	AAUGGUCAGACUGUCCAU	679	1906-1924	AUGGAACAGUCUGACCAUU	786	1906-1924
AD-520785.1	AAGCAAGUCCUCCGACAU	680	443-461	AUGUCGGAGGAACUUGCUU	787	443-461
AD-521919.1	AGCUGGUUGGGAAAUGACU	681	1836-1854	AGUCAUUUCCCAACCAGCU	788	1836-1854
AD-521121.1	CUGGGAGAGAU AUGCCUUU	682	873-891	AAAGGCAUAUCUCUCCAG	789	873-891

AD-522202.1	GAGAUGUUAGUAGAAUAAU	683	2276-2294	AUUAUUCUACUAACAUCUC	790	2276-2294
AD-521130.1	AUAUGCCUUCGAGGAUAAU	684	882-900	AAUAUCCUCGAAGGCAUAAU	791	882-900
AD-521908.1	UGCGUUAUUCAGCUGGUU	685	1825-1843	AACCAGCUGAAUUAACGCA	792	1825-1843
AD-522173.1	UUGUUACCUGUUGAAUUUU	686	2240-2258	AAAAUUCAACAGGUAACAA	793	2240-2258
AD-521785.1	GCAGCUACCUCGCAUUGU	687	1681-1699	ACAAUGCGGAGGUAGCUGC	794	1681-1699
AD-520890.1	UCGGUCCAAAGACGAAGUU	688	569-587	AACUUCGUCUUUGGACCGA	795	569-587
AD-520978.1	AGUGACAACGUACCCUUCU	689	681-699	AGAAGGGUACGUUGUCACU	796	681-699
AD-521744.1	GUCUAGCAGAUUCUUUCAU	690	1637-1655	AUGAAAGAAUCUGCUAGAC	797	1637-1655
AD-521021.1	UGCCCUAAAGUCAAGUCCU	691	753-771	AGGACUUGACUUUAGGGCA	798	753-771
AD-521197.1	UCCUCAGAAGGGAUGGAUU	692	966-984	AAUCCAUCCUUCUGAGGA	799	966-984
AD-521379.1	CAAAGGUGGAUACAUGAGU	693	1175-1193	ACUCAUGUAUCCACCUUUG	800	1175-1193
AD-520925.1	UCUACAGUGGCCUUAUCCU	694	622-640	AGGAUAAGGCCACUGUAGA	801	622-640
AD-520888.1	UUUCGGUCCAAAGACGAAU	695	567-585	AUUCGUCUUUGGACCGAAA	802	567-585
AD-520975.1	GUGAGUGACAACGUACCCU	696	678-696	AGGGUACGUUGUCACUCAC	803	678-696
AD-521666.1	UUCUUCUUGGGCAAUAAAU	697	1539-1557	AUUUAUUGCCCAAGAAGAA	804	1539-1557
AD-521922.1	UGGUUGGGAAAUGACACCU	698	1839-1857	AGGUGUCAUUUCCCAACCA	805	1839-1857
AD-521986.1	UUAAUGGUCAGACUGUUCU	699	1904-1922	AGAACAGUCUGACCAUUA	806	1904-1922
AD-521915.1	AUUCAGCUGGUUGGGAAAU	700	1832-1850	AUUUCCCAACCAGCUGAAU	807	1832-1850
AD-520897.1	AAAGACGAAGUCGUGGAUU	701	576-594	AAUCCACGACUUCGUCUUU	808	576-594
AD-520889.1	UUCGGUCCAAAGACGAAGU	702	568-586	ACUUCGUCUUUGGACCGAA	809	568-586
AD-520885.1	GACUUUCGGUCCAAAGACU	703	564-582	AGUCUUUGGACCGAAAGUC	810	564-582
AD-521469.1	UGCGAUUGUCCAGAGACUU	704	1271-1289	AAGUCUCUGGACAAUCGCA	811	1271-1289
AD-521674.1	GGGCAAUAAAGUACCUGCU	705	1547-1565	AGCAGGUACUUUAUUGCCC	812	1547-1565
AD-521983.1	CUAUUAAUGGUCAGACUGU	706	1901-1919	ACAGUCUGACCAUUAUAG	813	1901-1919
AD-521385.1	UGGAUACAUGAGCAAGAUU	707	1181-1199	AAUCUUGCUC AUGUAUCCA	814	1181-1199
AD-521937.1	ACCAGGAAGCCCAGUGCAU	708	1854-1872	AUGCACUGGGCUUCCUGGU	815	1854-1872
AD-522141.1	UUUUUCACCUAACUAAAAU	709	2183-2201	AUUUUAGUUAGGUGAAAA	816	2183-2201
AD-522143.1	UUUCACCUAACUAAAAUAAU	710	2185-2203	AUAUUUUAGUUAGGUGAAA	817	2185-2203
AD-521669.1	UUCUUGGGCAAUAAAGUAU	711	1542-1560	AUACUUUAUUGCCCAAGAA	818	1542-1560

**Таблица 7. Модифицированные смысловые и антисмысловые последовательности средств на основе дсРНК PNPLA3**

Название дуплекса	Смысловая последовательность от 5' до 3'	SEQ ID NO:	Антисмысловая последовательность от 5' до 3'	SEQ ID NO:	целевая последовательность мРНК от 5' до 3'	SEQ ID NO:
AD-521420.1	GGAUAAUGUCUUAUGUA AUdTdT	819	AUUACAUAAGACAUAUCCd TdT	926	GGAUAAUGUCUUAUGUAAU	1033
AD-520973.1	GAGUGAGUGACAACGUA CUdTdT	820	AGUACGUUGUCACUCACUCd TdT	927	GAGUGAGUGACAACGUACC	1034
AD-521124.1	GGAGAGAU AUGCCUUCG AUdTdT	821	AUCGAAGGCAUAUCUCUCCd TdT	928	GGAGAGAU AUGCCUUCGAG	1035
AD-521486.1	UGGUGACAUGGCUUCCA GUdTdT	822	ACUGGAAGCCAUGUCACCAc dTdT	929	UGGUGACAUGGCUUCCAGA	1036
AD-520903.1	GAAGUCGUGGAUGCCUU GUdTdT	823	ACAAGGCAUCCACGACUUCd TdT	930	GAAGUCGUGGAUGCCUUGG	1037
AD-520972.1	GGAGUGAGUGACAACGU AUdTdT	824	AUACGUUGUCACUCACUCCd TdT	931	GGAGUGAGUGACAACGUAC	1038
AD-521421.1	GAUAAUGUCUUAUGUAA UdTdT	825	AAUUACAUAAGACAUAUUCd TdT	932	GAUAAUGUCUUAUGUAAUG	1039
AD-521840.1	GGUUUUAUGAAAAGCUA GUdTdT	826	ACUAGCUUUUCAUAAAACc dTdT	933	GGUUUUAUGAAAAGCUAGG	1040
AD-521003.1	CAAACAACCAUCACCGU UdTdT	827	AACGGUGAUGGUUGUUUUGd dTdT	934	CAAACAACCAUCACCGUG	1041
AD-521129.1	GAU AUGCCUUCGAGGAU AUdTdT	828	AUAUCCUCGAAGGCAUAUCd TdT	935	GAU AUGCCUUCGAGGAU AU	1042
AD-521465.1	CCAUUGCGAUUGUCCAG AUdTdT	829	AUCUGGACAAUCGCAAUGGd dTdT	936	CCAUUGCGAUUGUCCAGAG	1043
AD-521086.1	ACAGGGAACCUCUACCUU UdTdT	830	AAAGGUAGAGGUUCCCUGUd dTdT	937	ACAGGGAACCUCUACCUUC	1044
AD-521409.1	UGC UACCAU UAGGAUA AUdTdT	831	AUUAUCCUAAUGGGUAGCAd TdT	938	UGC UACCAU UAGGAU AAU	1045
AD-522178.1	CCUGUUGAAUUUUGUAU UdTdT	832	AAAUACA AAAUUCAACAGGd dTdT	939	CCUGUUGAAUUUUGUAUUA	1046
AD-520974.1	AGUGAGUGACAACGUAC CUdTdT	833	AGGUACGUUGUCACUCACUd dTdT	940	AGUGAGUGACAACGUACCC	1047
AD-520902.1	CGAAGUCGUGGAUGCCU	834	AAAGGCAUCCACGACUUCGd	941	CGAAGUCGUGGAUGCCUUG	1048

	UUdTdT		TdT			
AD-522140.1	CUUUUUCACCUAACUAA AUdTdT	835	AUUUAGUUAGGUGAAAAAGd TdT	942	CUUUUUCACCUAACUAAAA	1049
AD-521410.1	GCUACCCAUUAGGAUAA UUdTdT	836	AAUUAUCCUAAUGGGUAGCd TdT	943	GCUACCCAUUAGGAUAAUG	1050
AD-522548.1	GAACCUGGCUUAUUUUC UUdTdT	837	AAGAAAAUAAGCCAGGUUCd TdT	944	GAACCUGGCUUAUUUUCUG	1051
AD-521002.1	CCAAAACAACCAUCACCG UdTdT	838	ACGGUGAUGGUUGUUUUGGd TdT	945	CCAAAACAACCAUCACCGU	1052
AD-522176.1	UUACCUGUUGAAUUUUG UUdTdT	839	AACAAAUAUACAACAGGUAAd TdT	946	UUACCUGUUGAAUUUUGUA	1053
AD-520926.1	CUACAGUGGCCUUAUCCC UdTdT	840	AGGGUAUAAGGCCACUGUAGd TdT	947	CUACAGUGGCCUUAUCCCU	1054
AD-521895.1	CUAAUACAUCAGCAUGC GUdTdT	841	ACGCAUGCUGAUGUAUUAGd TdT	948	CUAAUACAUCAGCAUGCUGU	1055
AD-521499.1	CCAGAU AUGCCCGACGAU UdTdT	842	AAUCGUCGGGCAUAUCUGGd TdT	949	CCAGAU AUGCCCGACGAUG	1056
AD-521466.1	CAUUGCGAUUGUCCAGA GUdTdT	843	ACUCUGGACAAUCGCAAUGd TdT	950	CAUUGCGAUUGUCCAGAGA	1057
AD-521140.1	GAGGAU AUUUGGAUGCA UUdTdT	844	AAUGCAUCCAAAUAUCCUCd TdT	951	GAGGAU AUUUGGAUGCAU	1058
AD-520892.1	GGUCCAAAGACGAAGUC GUdTdT	845	ACGACUUCGUCUUUGGACCd TdT	952	GGUCCAAAGACGAAGUCGU	1059
AD-520976.1	UGAGUGACAACGUACCC UUdTdT	846	AAGGGUACGUUGUCACUCAd TdT	953	UGAGUGACAACGUACCCUU	1060
AD-521457.1	GGAAUCUGCCAUUGCGA UUdTdT	847	AAUCGCAAUGGCAGAUUCCd TdT	954	GGAAUCUGCCAUUGCGAU	1061
AD-521127.1	GAGAU AUGCCUUCGAGG AUdTdT	848	AUCCUCGAAGGCAUAUCUCd TdT	955	GAGAU AUGCCUUCGAGGAU	1062
AD-522145.1	UCACCUAACUAAAUA UUdTdT	849	AAUUUUUUAGUUAGGUGAd TdT	956	UCACCUAACUAAAUAUG	1063
AD-520984.1	ACGUACCCUUCAUUGAU GUdTdT	850	ACAUCAUGAAGGGUACGUd TdT	957	ACGUACCCUUCAUUGAUGC	1064
AD-521997.1	CUGUCCAGCAUGAGGU	851	AAACCUCAUGCUGGAACAGd	958	CUGUCCAGCAUGAGGUUC	1065

	UUdTdT		TdT			
AD-522174.1	UGUUACCUGUUGAAUUU UUdTdT	852	AAAAAUUCAACAGGUAACAd TdT	959	UGUUACCUGUUGAAUUUUG	1066
AD-522545.1	UUGAACCUGGCUUAUUU UUdTdT	853	AAAAAUAAGCCAGGUUCAAd TdT	960	UUGAACCUGGCUUAUUUUC	1067
AD-521979.1	GGCCCUAUUAAUGGUCA GUdTdT	854	ACUGACCAUUAUAGGGCCd TdT	961	GGCCCUAUUAAUGGUCAGA	1068
AD-520891.1	CGGUCCAAAGACGAAGU CUdTdT	855	AGACUUCGUCUUUGGACCGd TdT	962	CGGUCCAAAGACGAAGUCG	1069
AD-521833.1	CUGAGUUGGUUUUAUGA AUdTdT	856	AUUCAUAAAACCAACUCAGd TdT	963	CUGAGUUGGUUUUAUGAAA	1070
AD-521461.1	UCUGCCAUUGCGAUUGU CUdTdT	857	AGACAAUCGCAAUGGCAGAd TdT	964	UCUGCCAUUGCGAUUGUCC	1071
AD-521386.1	GGAUACAUGAGCAAGAU UUdTdT	858	AAAUUCUUGCUCUAUGUAUCCd TdT	965	GGAUACAUGAGCAAGAUUU	1072
AD-521123.1	GGGAGAGAU AUGCCUUC GUdTdT	859	ACGAAGGCAUAUCUCUCCcd TdT	966	GGGAGAGAU AUGCCUUCGA	1073
AD-520899.1	AGACGAAGUCGUGGAUG CUdTdT	860	AGCAUCCACGACUUCGUCUd TdT	967	AGACGAAGUCGUGGAUGCC	1074
AD-521089.1	GGGAACCUCUACCUUCUC UdTdT	861	AGAGAAGGUAGAGGUUCCcd TdT	968	GGGAACCUCUACCUUCUCU	1075
AD-521407.1	CUUGC UACCCA U UAGGA UUdTdT	862	AAUCCUAAUGGGUAGCAAGd TdT	969	CUUGC UACCCA U UAGGAU A	1076
AD-520898.1	AAGACGAAGUCGUGGAU GUdTdT	863	ACAUCCACGACUUCGUCUud TdT	970	AAGACGAAGUCGUGGAUGC	1077
AD-521378.1	ACAAAGGUGGAUACAUG AUdTdT	864	AUCAUGUAUCCACCUUUGUd TdT	971	ACAAAGGUGGAUACAUGAG	1078
AD-521500.1	CAGAU AUGCCCGACGAU GUdTdT	865	ACAUCGUCGGGCAUAUCUGd TdT	972	CAGAU AUGCCCGACGAUGU	1079
AD-521798.1	CAUUGCUGUGUAGUGAC CUdTdT	866	AGGUCACUACACAGCAAUGd TdT	973	CAUUGCUGUGUAGUGACCC	1080
AD-521902.1	UCAGCAUGCGUUA AUUC AUdTdT	867	AUGAAUUAACGCAUGCUGAd TdT	974	UCAGCAUGCGUUA AUUCAG	1081
AD-521896.1	UAAUACAUCAGCAUGCG	868	AACGCAUGCUGAUGUAUUAAd	975	UAAUACAUCAGCAUGCGUU	1082



	UUdTdT		TdT			
AD-521989.1	AUGGUCAGACUGUCCA GUdTdT	869	ACUGGAACAGUCUGACCAUd TdT	976	AUGGUCAGACUGUCCAGC	1083
AD-520896.1	CAAAGACGAAGUCGUGG AUdTdT	870	AUCCACGACUUCGUCUUUGd TdT	977	CAAAGACGAAGUCGUGGAU	1084
AD-69024.2	CCUAACUAAAAUAAUGU UUdTdT	871	AAACAUUAAUUUAGUUAGGd TdT	978	CCUAACUAAAAUAAUGUUU	1085
AD-522146.1	CACCUAACUAAAAUAAU GUdTdT	872	ACAUUAAUUUAGUUAGGUGd TdT	979	CACCUAACUAAAAUAAUGU	1086
AD-522432.1	AGAUUGCACCAUUUCAU UUdTdT	873	AAAUGAAAUGGUGCAAUCUd TdT	980	AGAUUGCACCAUUUCAUUC	1087
AD-521020.1	CUGCCCUAAAGUCAAGUC UdTdT	874	AGACUUGACUUUAGGGCAGd TdT	981	CUGCCCUAAAGUCAAGUCC	1088
AD-521668.1	CUUCUUGGGCAAUAAAG UUdTdT	875	AACUUAAUUGCCCAAGAAGd TdT	982	CUUCUUGGGCAAUAAAGUA	1089
AD-522097.1	UAACCUUGACUACUAAA AUdTdT	876	AUUUUAGUAGUCAAGGUUAd TdT	983	UAACCUUGACUACUAAAA	1090
AD-520999.1	AUGCCAAAACAACCAUCA UdTdT	877	AUGAUGGUUGUUUUGGCAUd TdT	984	AUGCCAAAACAACCAUCAC	1091
AD-521832.1	GCUGAGUUGGUUUUAUG AUdTdT	878	AUCAUAAAACCAACUCAGCd TdT	985	GCUGAGUUGGUUUUAUGAA	1092
AD-520894.1	UCCAAAGACGAAGUCGU GUdTdT	879	ACACGACUUCGUCUUUGGAd TdT	986	UCCAAAGACGAAGUCGUGG	1093
AD-522144.1	UUCACCUAACUAAAAUA AUdTdT	880	AUUAUUUUAGUUAGGUGAAd TdT	987	UUCACCUAACUAAAAUAAU	1094
AD-521408.1	UUGCUCACCAUUAGGAU AUdTdT	881	AUAUCCUAAUGGGUAGCAAd TdT	988	UUGCUCACCAUUAGGAUAA	1095
AD-521128.1	AGAU AUGCCUUCGAGGA UUdTdT	882	AAUCCUCGAAGGCAUAUCUd TdT	989	AGAU AUGCCUUCGAGGAUA	1096
AD-521980.1	GCCCUAUUAAUGGUCAG AUdTdT	883	AUCUGACCAUUAUAGGGCd TdT	990	GCCCUAUUAAUGGUCAGAC	1097
AD-521406.1	ACUUGCUCACCAUUAGG AUdTdT	884	AUCCUAAUGGGUAGCAAGUd TdT	991	ACUUGCUCACCAUUAGGAU	1098
AD-521131.1	UAUGCCUUCGAGGAUUAU	885	AAAUAUCCUCGAAGGCAUAd	992	UAUGCCUUCGAGGAUUAUU	1099

	UUdTdT		TdT			
AD-521909.1	GCGUUAUUUCAGCUGGU UUdTdT	886	AAACCAGCUGAAUUAACGCd TdT	993	GCGUUAUUUCAGCUGGUUG	1100
AD-521954.1	GAGGGUCCCUUACUGAC UUdTdT	887	AAGUCAGUAAGGGACCCUCd TdT	994	GAGGGUCCCUUACUGACUG	1101
AD-520872.1	CGUUCUGGUGUCUGACU UUdTdT	888	AAAGUCAGACACCAGAACGd TdT	995	CGUUCUGGUGUCUGACUUU	1102
AD-522142.1	UUUUCACCUAACUAAAA UUdTdT	889	AAUUUUAGUUAGGUGAAAAd TdT	996	UUUUCACCUAACUAAAAUA	1103
AD-520994.1	CAUUGAUGCCAAAACAA CUdTdT	890	AGUUGUUUUGGCAUCAAUg TdT	997	CAUUGAUGCCAAAACAACC	1104
AD-520886.1	ACUUUCGGUCCAAAGAC GUdTdT	891	ACGUCUUUGGACCGAAAGUd TdT	998	ACUUUCGGUCCAAAGACGA	1105
AD-521987.1	UAAUGGUCAGACUGUUC CUdTdT	892	AGGAACAGUCUGACCAUAd TdT	999	UAAUGGUCAGACUGUCCA	1106
AD-521988.1	AAUGGUCAGACUGUUC AUdTdT	893	AUGGAACAGUCUGACCAUd TdT	1000	AAUGGUCAGACUGUCCAG	1107
AD-520785.1	AAGCAAGUCCUCCGACA UdTdT	894	AUGUCGGAGGAACUUGCd TdT	1001	AAGCAAGUCCUCCGACAG	1108
AD-521919.1	AGCUGGUUGGGAAAUGA CUdTdT	895	AGUCAUUCCCAACCAGC TdT	1002	AGCUGGUUGGGAAAUGACA	1109
AD-521121.1	CUGGGAGAGAU AUGCCU UUdTdT	896	AAAGGCAUAUCUCUCCAGd TdT	1003	CUGGGAGAGAU AUGCCUUC	1110
AD-522202.1	GAGAUGUUAGUAGAAUA AUdTdT	897	AUUAUUCUACUAACAUCd TdT	1004	GAGAUGUUAGUAGAAUAAG	1111
AD-521130.1	AUAUGCCUUCGAGGAUA UUdTdT	898	AAUAUCCUCGAAGGCAUAd TdT	1005	AUAUGCCUUCGAGGAUAU	1112
AD-521908.1	UGCGUUAUUUCAGCUGG UUdTdT	899	AACCAGCUGAAUUAACGCAd TdT	1006	UGCGUUAUUUCAGCUGGU	1113
AD-522173.1	UUGUUACCUGUUGAAUU UUdTdT	900	AAA AUUCAACAGGUAACAAd TdT	1007	UUGUUACCUGUUGAAUUUU	1114
AD-521785.1	GCAGCUACCUCGCAUUG UdTdT	901	ACAAUGCGGAGGUAGCUGC TdT	1008	GCAGCUACCUCGCAUUGC	1115
AD-520890.1	UCGGUCCAAAGACGAAG	902	AACUUCGUCUUUGGACCGAd	1009	UCGGUCCAAAGACGAAGUC	1116

	UUdTdT		TdT			
AD-520978.1	AGUGACAACGUACCCUUC UdTdT	903	AGAAGGGUACGUUGUCACUd TdT	1010	AGUGACAACGUACCCUUCA	1117
AD-521744.1	GUCUAGCAGAUUCUUUC AUdTdT	904	AUGAAAGAAUCUGCUAGACd TdT	1011	GUCUAGCAGAUUCUUUCAG	1118
AD-521021.1	UGCCCUAAAGUCAAGUCC UdTdT	905	AGGACUUGACUUUAGGGCAd TdT	1012	UGCCCUAAAGUCAAGUCCA	1119
AD-521197.1	UCCUCAGAAGGGAUGGA UUdTdT	906	AAUCCAUCCCUUCUGAGGAd TdT	1013	UCCUCAGAAGGGAUGGAUC	1120
AD-521379.1	CAAAGGUGGAUACAUGA GUdTdT	907	ACUCAUGUAUCCACCUUUGd TdT	1014	CAAAGGUGGAUACAUGAGC	1121
AD-520925.1	UCUACAGUGGCCUUAUCC UdTdT	908	AGGAUAAGGCCACUGUAGAd TdT	1015	UCUACAGUGGCCUUAUCCC	1122
AD-520888.1	UUUCGGUCCAAAGACGA AUdTdT	909	AUUCGUCUUUGGACCGAAAd TdT	1016	UUUCGGUCCAAAGACGAAG	1123
AD-520975.1	GUGAGUGACAACGUACC CUdTdT	910	AGGGUACGUUGUCACUCACd TdT	1017	GUGAGUGACAACGUACCCU	1124
AD-521666.1	UUCUUCUUGGGCAAUAA AUdTdT	911	AUUUAUUGCCCAAGAAGAAd TdT	1018	UUCUUCUUGGGCAAUAAAG	1125
AD-521922.1	UGGUUGGGAAAUGACAC CUdTdT	912	AGGUGUCAUUUCCCAACCAAd TdT	1019	UGGUUGGGAAAUGACACCA	1126
AD-521986.1	UUA AUGGUCAGACUGUU CUdTdT	913	AGAACAGUCUGACCAUUAAd TdT	1020	UUA AUGGUCAGACUGUUC	1127
AD-521915.1	AUUCAGCUGGUUGGGAA AUdTdT	914	AUUUCCCAACCAGCUGAAUd TdT	1021	AUUCAGCUGGUUGGGAAU	1128
AD-520897.1	AAAGACGAAGUCGUGGA UUdTdT	915	AAUCCACGACUUCGUCUUd TdT	1022	AAAGACGAAGUCGUGGAUG	1129
AD-520889.1	UUCGGUCCAAAGACGAA GUdTdT	916	ACUUCGUCUUUGGACCGAAAd TdT	1023	UUCGGUCCAAAGACGAAGU	1130
AD-520885.1	GACUUUCGGUCCAAAGA CUdTdT	917	AGUCUUUGGACCGAAAGUCd TdT	1024	GACUUUCGGUCCAAAGACG	1131
AD-521469.1	UGCGAUUGUCCAGAGAC UUdTdT	918	AAGUCUCUGGACAAUCGCAd TdT	1025	UGCGAUUGUCCAGAGACUG	1132
AD-521674.1	GGGCAAUAAAGUACCUG	919	AGCAGGUACUUUAUUGCCcd	1026	GGGCAAUAAAGUACCUGCU	1133

	CUdTdT		TdT			
AD-521983.1	CUAUUAAUGGUCAGACU GUdTdT	920	ACAGUCUGACCAUUAUAGd TdT	1027	CUAUUAAUGGUCAGACUGU	1134
AD-521385.1	UGGAUACAUGAGCAAGA UdTdT	921	AAUCUUGCUCUAUGUAUCCAd TdT	1028	UGGAUACAUGAGCAAGAUU	1135
AD-521937.1	ACCAGGAAGCCCAGUGCA UdTdT	922	AUGCACUGGGCUUCCUGGud TdT	1029	ACCAGGAAGCCCAGUGCAG	1136
AD-522141.1	UUUUUCACCUAACUAAA AUdTdT	923	AUUUUAGUUAGGUGAAAAAd TdT	1030	UUUUUCACCUAACUAAAAU	1137
AD-522143.1	UUUCACCUAACUAAAAU AUdTdT	924	AUAUUUUAGUUAGGUGAAAd TdT	1031	UUUCACCUAACUAAAAUAA	1138
AD-521669.1	UUCUUGGGCAAUAAAGU AUdTdT	925	AUACUUUAUUGCCCAAGAAAd TdT	1032	UUCUUGGGCAAUAAAGUAC	1139

**Таблица 8. Немодифицированные смысловые и антисмысловые последовательности средств на основе дсРНК PNPLA3**

Название Дуплекса	Смысловая последовательность от 5' до 3'	SEQ ID NO:	Позиции по NM_025225.2	Антисмысловая последовательность от 5' до 3'	SEQ ID NO:	Позиции по NM_025225.2
AD-520062.3	ACCUUUUUCACCUAACUAAA U	1140	2180-2200	AUUUAGUUAGGUGAAAAAGG UGU	1230	2178-2200
AD-520060.1	ACACCUUUUUCACCUAACUA U	1141	2178-2198	AUAGUUAGGUGAAAAAGGUG UUC	1231	2176-2198
AD-520064.3	CUUUUUCACCUAACUAAAAU U	1142	2182-2202	AAUUUUAGUUAGGUGAAAAA GGU	1232	2180-2202
AD-518983.1	ACUUUCUUCAUGUGGACAUC U	1143	775-795	AGAUGUCCACAUGAAGAAAG UUC	1233	773-795
AD-520061.1	CACCUUUUUCACCUAACUAA U	1144	2179-2199	AUUAGUUAGGUGAAAAAGGU GUU	1234	2177-2199
AD-520063.2	CCUUUUUCACCUAACUAAAA U	1145	2181-2201	AUUUUAGUUAGGUGAAAAAG GUG	1235	2179-2201
AD-519615.1	UCCACCUUCCCAGUUUUUC U	1146	1581-1601	AGAAAAACUGGGAAAGGUGG AGA	1236	1579-1601
AD-519757.1	CUGAGUUGGUUUUAUGAAAA U	1147	1746-1766	AUUUUCAUAAAACCAACUCA GCU	1237	1744-1766
AD-	AAGAUUUGCAACUUGCUACC	1148	1194-1214	AGGUAGCAAGUUGCAAUCU	1238	1192-1214

519329.1	U			UGC		
AD-519324.1	UGAGCAAGAUUUGCAACUUG U	1149	1189-1209	ACAAGUUGCAAUUCUUGCUC AUG	1239	1187-1209
AD-518811.1	AAACGUUCUGGUGUCUGACU U	1150	548-568	AAGUCAGACACCAGAACGUU UUC	1240	546-568
AD-520059.1	AACACCUUUUUCACCUAACU U	1151	2177-2197	AAGUUAGGUGAAAAAGGUGU UCU	1241	2175-2197
AD-519616.1	CCACCUUCCCAGUUUUUCA U	1152	1582-1602	AUGAAAACUGGGAAAGGUG GAG	1242	1580-1602
AD-518655.1	CAGGUCCUCUCAGAUCUUGU U	1153	372-392	AACAAGAUCUGAGAGGACCU GCA	1243	370-392
AD-519617.1	CACCUUCCCAGUUUUUCAC U	1154	1583-1603	AGUGAAAACUGGGAAAGGU GGA	1244	1581-1603
AD-519307.1	AAAGACAAAGGUGGAUACAU U	1155	1170-1190	AAUGUAUCCACCUUUGUCUU UCA	1245	1168-1190
AD-520065.3	UUUUUCACCUAACUAAAUA U	1156	2183-2203	AUAUUUAGUUAGGUGAAAA AGG	1246	2181-2203
AD-519323.1	AUGAGCAAGAUUUGCAACUU U	1157	1188-1208	AAAGUUGCAAUUCUUGCUCU UGU	1247	1186-1208
AD-519331.1	AUUUGCAACUUGCACCCAU U	1158	1197-1217	AAUGGGUAGCAAGUUGCAAA UCU	1248	1195-1217
AD-518922.1	GACAACGUACCCUUCAUUGA U	1159	684-704	AUCAAUGAAGGGUACGUUGU CAC	1249	682-704
AD-519339.1	UUGCACCCAUUAGGAUAAU U	1160	1206-1226	AAUUAUCCUAAUGGGUAGCA AGU	1250	1204-1226
AD-67552.2	UGCCUUCGAGGAUAAUUGGA U	1161	885-905	AUCCAAAUAUCCUCGAAGGC AUA	1251	883-905
AD-519756.1	GCUGAGUUGGUUUUAUGAAA U	1162	1745-1765	AUUUCAUAAAACCAACUCAG CUC	1252	1743-1765
AD-519333.1	UUGCAACUUGCACCCAUUA U	1163	1199-1219	AUAAUGGGUAGCAAGUUGCA AAU	1253	1197-1219
AD-519612.1	CUCUCCACCUUCCCAGUUU U	1164	1578-1598	AAAACUGGGAAAGGUGGAGA GCC	1254	1576-1598
AD-	UUGGUUUUAUGAAAAGCUAG	1165	1751-1771	ACUAGCUUUUCAUAAAACCA	1255	1749-1771

519762.1	U			ACU		
AD-75265.3	CAUGAGCAAGAUUUGCAACU U	1166	1187-1207	AAGUUGCAAUCUUGCUCAU GUA	1256	1185-1207
AD-67554.5	UCUGAGCUGAGUUGGUUUUA U	1167	1740-1760	AUAAAACCAACUCAGCUCAG AGG	1257	1738-1760
AD-518928.1	GUACCCUUCAUUGAUGCCAA U	1168	690-710	AUUGGCAUCAAUGAAGGGUA CGU	1258	688-710
AD-519578.1	GUCCAGCCUGAACUUCUUCU U	1169	1526-1546	AAGAAGAAGUUCAGGCUGGA CCU	1259	1524-1546
AD-75277.3	CUUGCACCCAUUAGGAUAA U	1170	1205-1225	AUUAUCCUAAUGGGUAGCAA GUU	1260	1203-1225
AD-519317.1	UGGAUACAUGAGCAAGAUUU U	1171	1181-1201	AAAUCUUGCUC AUGUAUCC ACC	1261	1179-1201
AD-67581.5	CCUAUUA AUGGUCAGACUGU U	1172	1900-1920	AACAGUCUGACCAUUA AUAG GGC	1262	1898-1920
AD-519753.1	UGAGCUGAGUUGGUUUUAUG U	1173	1742-1762	ACAUAAAACCAACUCAGCUC AGA	1263	1740-1762
AD-518701.1	AUCUCCA UCCA UCCUCAA U	1174	420-440	AUUGAAGGAUGGAUGGAAGA UGC	1264	418-440
AD-519752.1	CUGAGCUGAGUUGGUUUUAU U	1175	1741-1761	AAUAAAACCAACUCAGCUCA GAG	1265	1739-1761
AD-519328.1	CAAGAUUUGCAACUUGCUCAC U	1176	1193-1213	AGUAGCAAGUUGCAAUCU GCU	1266	1191-1213
AD-519322.1	ACAUGAGCAAGAUUUGCAAC U	1177	1186-1206	AGUUGCAAUCUUGCUC AUG UAU	1267	1184-1206
AD-519911.1	CUAUUA AUGGUCAGACUGUU U	1178	1901-1921	AAACAGUCUGACCAUUAUA GGG	1268	1899-1921
AD-519029.1	AGGGAACCUCUACCUUCUCU U	1179	821-841	AAGAGAAGGUAGAGGUUCCC UGU	1269	819-841
AD-519913.1	AUUA AUGGUCAGACUGUCC U	1180	1903-1923	AGGAACAGUCUGACCAUUA UAG	1270	1901-1923
AD-518924.1	CAACGUACCCUUCAUUGAUG U	1181	686-706	ACAUCAUGAAGGGUACGUU GUC	1271	684-706
AD-	UUUUAUGAAAAGCUAGGAAG	1182	1755-1775	ACUCCUAGCUUUUCAUAAA	1272	1753-1775

519766.1	U			ACC		
AD-519069.1	UAUGCCUUCGAGGAUAAUUUG U	1183	883-903	ACAAUAUCCUCGAAGGCAU AUC	1273	881-903
AD-519614.1	CUCCACCUUCCCAGUUUUU U	1184	1580-1600	AAAAACUGGGAAAGGUGGA GAG	1274	1578-1600
AD-519618.1	ACCUUUCAGUUUUUCACU U	1185	1584-1604	AAGUGAAAAACUGGGAAAGG UGG	1275	1582-1604
AD-519326.1	AGCAAGAUUUGCAACUUGCU U	1186	1191-1211	AAGCAAGUUGCAAUCUUGC UCA	1276	1189-1211
AD-518920.1	GUGACAACGUACCCUUCAU U	1187	682-702	AAAUGAAGGGUACGUUGUCA CUC	1277	680-702
AD-519760.1	AGUUGGUUUUAUGAAAAGCU U	1188	1749-1769	AAGCUUUUCAUAAAACCAAC UCA	1278	1747-1769
AD-518813.1	CGUUCUGGUGUCUGACUUUC U	1189	551-571	AGAAAGUCAGACACCAGAAC GUU	1279	549-571
AD-519396.1	UCUGCCAUUGCGAUUGUCCA U	1190	1263-1283	AUGGACAAUCGCAAUGGCAG AUU	1280	1261-1283
AD-519935.1	CAUGAGGUUCUAGAAUGAC U	1191	1925-1945	AGUCAUUCUAAGAACCUCAU GCU	1281	1923-1945
AD-519758.1	UGAGUUGGUUUUAUGAAAAG U	1192	1747-1767	ACUUUUCAUAAAACCAACUC AGC	1282	1745-1767
AD-518831.1	CGGUCCAAAGACGAAGUCGU U	1193	570-590	AACGACUUCGUCUUUGGACC GAA	1283	568-590
AD-518923.1	ACAACGUACCCUUCAUUGAU U	1194	685-705	AAUCAUGAAGGGUACGUUG UCA	1284	683-705
AD-519755.2	AGCUGAGUUGGUUUUAUGAA U	1195	1744-1764	AUCAUAAAACCAACUCAGC UCA	1285	1742-1764
AD-520116.1	UGUGAAUCAGUGAGAUGUUA U	1196	2265-2285	AUAACAUCUCACUGAUUCAC AUA	1286	2263-2285
AD-519093.1	AUUCAGGUUCUUGGAAGAGA U	1197	908-928	AUCUCUCCAAGAACCUGAA UGC	1287	906-928
AD-67588.2	AACGUUCUGGUGUCUGACUU U	1198	549-569	AAAGUCAGACACCAGAACGU UUU	1288	547-569
AD-	GAGCUGAGUUGGUUUUAUGA	1199	1743-1763	AUCAUAAAACCAACUCAGCU	1289	1741-1763

519754.3	U			CAG		
AD-519308.1	AAGACAAAGGUGGAUACAUG U	1200	1171-1191	ACAUGUAUCCACCUUUGUCU UUC	1290	1169-1191
AD-519759.1	GAGUUGGUUUUAUGAAAAGC U	1201	1748-1768	AGCUUUUCAUAAAACCAACU CAG	1291	1746-1768
AD-519763.1	UGGUUUUAUGAAAAGCUAGG U	1202	1752-1772	ACCUAGCUUUUCAUAAAACC AAC	1292	1750-1772
AD-519327.1	GCAAGAUUUGCAACUUGC UA	1203	1192-1212	AUAGCAAGUUGCAAUCUUG CUC	1293	1190-1212
AD-519761.1	GUUGGUUUUAUGAAAAGCUA U	1204	1750-1770	AUAGCUUUUCAUAAAACCAA CUC	1294	1748-1770
AD-518702.1	UCUCCAUCUCCAUCUCCAAC U	1205	421-441	AGUUGAAGGAUGGAUGGAAG AUG	1295	419-441
AD-519094.1	UUCAGGUUCUUGGAAGAGAA U	1206	909-929	AUUCUCUCCAAGAACCUGA AUG	1296	907-929
AD-518832.1	GGUCCAAAGACGAAGUCGUG U	1207	571-591	ACACGACUUCGUCUUUGGAC CGA	1297	569-591
AD-519767.1	UUUAUGAAAAGCUAGGAAGC U	1208	1756-1776	AGCUUCCUAGCUUUUCAUAA AAC	1298	1754-1776
AD-518917.1	UGAGUGACAACGUACCCUUC U	1209	679-699	AGAAGGGUACGUUGUCACUC ACU	1299	677-699
AD-518988.1	CUUCAUGUGGACAUCACCAA U	1210	780-800	AUUGGUGAUGUCCACAUGAA GAA	1300	778-800
AD-519305.1	UGAAAGACAAAGGUGGAUAC U	1211	1168-1188	AGUAUCCACCUUUGUCUUUC AUU	1301	1166-1188
AD-519613.1	UCUCCACCUUCCCAGUUUU U	1212	1579-1599	AAAACUGGGAAAGGUGGAG AGC	1302	1577-1599
AD-519121.1	CCUGAAGUCAUCCUCAGAAG U	1213	956-976	ACUUCUGAGGAUGACUUCAG GCC	1303	954-976
AD-519095.1	UCAGGUUCUUGGAAGAGAAG U	1214	910-930	ACUUCUCUCCAAGAACCUG AAU	1304	908-930
AD-518982.1	AACUUUCUUCAUGUGGACAU U	1215	774-794	AAUGUCCACAUGAAGAAAGU UCG	1305	772-794
AD-	CAGGUUCUUGGAAGAGAAGG	1216	911-931	ACCUUCUCUCCAAGAACCU	1306	909-931



519096.1	U			GAA		
AD-518986.1	UUCUUCAUGUGGACAUCACC U	1217	778-798	AGGUGAUGUCCACAUGAAGA AAG	1307	776-798
AD-518921.1	UGACAACGUACCCUUCAUUG U	1218	683-703	ACAAUGAAGGGUACGUUGUC ACU	1308	681-703
AD-518985.1	UUUCUUCAUGUGGACAUCAC U	1219	777-797	AGUGAUGUCCACAUGAAGAA AGU	1309	775-797
AD-518984.1	CUUUCUUCAUGUGGACAUCA U	1220	776-796	AUGAUGUCCACAUGAAGAAA GUU	1310	774-796
AD-519325.1	GAGCAAGAUUUGCAACUUGC U	1221	1190-1210	AGCAAGUUGCAAUUCUUGC CAU	1311	1188-1210
AD-518812.1	ACGUUCUGGUGUCUGACUUU U	1222	550-570	AAAAGUCAGACACCAGAACG UUU	1312	548-570
AD-518987.1	UCUUCAUGUGGACAUCACCA U	1223	779-799	AUGGUGAUGUCCACAUGAAG AAA	1313	777-799
AD-518958.1	CAUCUGCCCUAAAGUCAAGU U	1224	749-769	AACUUGACUUUAGGGCAGAU GUC	1314	747-769
AD-67572.2	UUCUUUCAGAGGUGC AAAAG U	1225	1647-1667	ACUUUAGCACCUCUGAAAAGA AUC	1315	1645-1667
AD-518980.1	CGAACUUUCUUCAUGUGGAC U	1226	772-792	AGUCCACAUGAAGAAAGUUC GUG	1316	770-792
AD-519070.1	AUGCCUUCGAGGAU AUUUGG U	1227	884-904	ACCAAUAUCCUCGAAGGCA UAU	1317	882-904
AD-518925.1	AACGUACCCUUCAUUGAUGC U	1228	687-707	AGCAUCAUGAAGGGUACGU UGU	1318	685-707
AD-518981.1	GAACUUUCUUCAUGUGGACA U	1229	773-793	AUGUCCACAUGAAGAAAGUU CGU	1319	771-793

**Таблица 9. Модифицированные смысловые и антисмысловые последовательности средств на основе дсРНК PNPLA3**

Название дуплекса	Смысловая последовательность от 5' до 3'	SEQ ID NO:	Антисмысловая последовательность от 5' до 3'	SEQ ID NO:	целевая последовательность мРНК от 5' до 3'	SEQ ID NO:
AD-520062.3	ascscuuuUfuCfAfCfcaaacuaa auL96	1320	asUfsuuuGfuUfAfggugAfaAfaaggus gsu	1410	ACACCUUUUUCACCUAAC UAAAA	1500

AD-520060.1	ascscaccUfuUfUfCfaccuaacu auL96	1321	asUfsaguUfaGfGfugaaAfaAfggugus usc	1411	GAACACCUUUUCACCUA ACUAA	1501
AD-520064.3	csusuuuuCfaCfCfUfaacuaaaa uuL96	1322	asAfsuuuUfaGfUfuaggUfgAfaaaags gsu	1412	ACCUUUUUCACCUAACUA AAUA	1502
AD-518983.1	ascsuuucUfuCfAfUfguggacau cuL96	1323	asGfsaugUfcCfAfcaugAfaGfaaagusu sc	1413	GAACUUUCUUCAUGUGGA CAUCA	1503
AD-520061.1	csascuuUfuUfCfAfcuaacua auL96	1324	asUfsuagUfuAfGfgugaAfaAfggugs usu	1414	AACACCUUUUCACCUAA CUAAA	1504
AD-520063.2	cscsuuuUfcAfCfCfuaacuaaaa auL96	1325	asUfsuuuAfgUfUfagguGfaAfaaaggs usg	1415	CACCUUUUUCACCUAACU AAAAU	1505
AD-519615.1	uscscaccUfuUfCfCfcaguuuuu cuL96	1326	asGfsaaaAfaCfUfgggaAfaGfguggasg sa	1416	UCUCCACCUUCCCAGUU UUUCA	1506
AD-519757.1	csusgaguUfgGfUfUfuaugaaa auL96	1327	asUfsuuuCfaUfAfaaacCfaAfcucagsc su	1417	AGCUGAGUUGGUUUUAUG AAAAG	1507
AD-519329.1	asasgauUfgCfAfAfcuugcuac cuL96	1328	asGfsguaGfcAfAfguugCfaAfaucuu gsc	1418	GCAAGAUUUGCAACUUGC UACCC	1508
AD-519324.1	usgsagcaAfgAfUfUfugcaacuu guL96	1329	asCfsaagUfuGfCfaaaUcfUfgcucasu sg	1419	CAUGAGCAAGAUUUGCAA CUUGC	1509
AD-518811.1	asasacguUfcUfGfGfugucugac uuL96	1330	asAfsugcAfgAfCfaccuGfaAfcguuuu sc	1420	GAAAACGUUCUGGUGUCU GACUU	1510
AD-520059.1	asascaccUfuUfUfUfcaccuaac uuL96	1331	asAfsuuuAfgGfUfgaaaAfaGfguguus csu	1421	AGAACACCUUUUUCACCU AACUA	1511
AD-519616.1	cscsaccuUfuCfCfCfaguuuuuc auL96	1332	asUfsgaaAfaAfCfugggAfaAfgguggs asg	1422	CUCCACCUUCCCAGUUU UUCAC	1512
AD-518655.1	csasggucCfuCfUfCfagaucuug uuL96	1333	asAfscaaGfaUfCfugagAfgGfaccugsc sa	1423	UGCAGGUCCUCUCAGAUC UUGUG	1513
AD-519617.1	csascuuUfcCfCfAfguuuuuca cuL96	1334	asGfsugaAfaAfAfcuggGfaAfggugs gsa	1424	UCCACCUUCCCAGUUUU UCACU	1514
AD-519307.1	asasagacAfaAfGfGfuggauaca uuL96	1335	asAfsuguAfuCfCfaccuUfuGfucuuus csa	1425	UGAAAGACAAAGGUGGAU ACAUG	1515
AD-520065.3	ususuuucAfcCfUfAfacuaaaa auL96	1336	asUfsauuUfuAfGfuugGfuGfaaaaas gsg	1426	CCUUUUUCACCUAACUAA AAUAA	1516
AD-519323.1	asusgagcAfaGfAfUfuugcaacu uuL96	1337	asAfsaguUfgCfAfaaucUfuGfcucausg su	1427	ACAUGAGCAAGAUUUGCA ACUUG	1517

AD-519331.1	asusuugcAfaCfUfUfgcuaccauuL96	1338	asAfsuggGfuAfGfcaagUfuGfcaaausc su	1428	AGAUUUGCAACUUGCUCAC CCAUU	1518
AD-518922.1	gsascaacGfuAfCfCfcuucuuL96	1339	asUfscaaUfgAfAfgggguAfcGfuugucs asc	1429	GUGACAACGUACCCUUCA UUGAU	1519
AD-519339.1	usugscuaCfcCfAfUfuaggauaa uuL96	1340	asAfsuuaUfcCfUfaaugGfgUfagcaasg su	1430	ACUUGCUCACCAUUAAGGA UAAUG	1520
AD-67552.2	usgsccuuCfgAfGfGfauuuugg auL96	1341	asUfscceaAfaUfAfuuccCfGfaggecasu sa	1431	UAUGCCUUCGAGGAUUAU UGGAU	1521
AD-519756.1	gscsugagUfuGfGfUfuuuugaa auL96	1342	asUfsuucAfuAfAfaaccAfaCfucagcsu sc	1432	GAGCUGAGUUGGUUUUAU GAAAA	1522
AD-519333.1	usugscacCfuUfGfCfuaccuu auL96	1343	asUfsaaUGfgGfUfagcaAfgUfugcaasa su	1433	AUUUGCAACUUGCUCACCC AUUAG	1523
AD-519612.1	csuscuccAfcCfUfUfuccaguu uuL96	1344	asAfsaacUfgGfGfaaagGfuGfgagagsc sc	1434	GGCUCUCCACCUUCCCA GUUUU	1524
AD-519762.1	usugguuUfuAfUfGfaaaagcua guL96	1345	asCfsuagCfuUfUfucuuAfaAfaccaasc su	1435	AGUUGGUUUUAUGAAAA GCUAGG	1525
AD-75265.3	csasugagCfaAfGfAfuugcaac uuL96	1346	asAfsuuGfcAfAfaucUfgCfucags usa	1436	UACAUGAGCAAGAUUUGC AACUU	1526
AD-67554.5	uscsugagCfuGfAfGfuugguuu uuL96	1347	asUfsaaaAfcCfAfacucAfgCfucagagsg sg	1437	CCUCUGAGCUGAGUUGGU UUUAU	1527
AD-518928.1	gsusaccUfuCfAfUfugaugcca auL96	1348	asUfsuggCfaUfCfaaugAfaGfgguacsg su	1438	ACGUACCCUUCAUUGAUG CCAAA	1528
AD-519578.1	gsusccagCfcUfGfAfacuucuu uuL96	1349	asAfsгааGfaAfGfuucaGfgCfuggacsc su	1439	AGGUCCAGCCUGAACUUC UUCUU	1529
AD-75277.3	csusugcuAfcCfCfAfuaggaua auL96	1350	asUfsuauCfcUfAfauggGfuAfgcaags usu	1440	AACUUGCUCACCAUUAAGG AUAAU	1530
AD-519317.1	usgsgauaCfaUfGfAfgcaaguu uuL96	1351	asAfsaaUfcUfGfcaUfgUfauccasc sc	1441	GGUGGAUACAUGAGCAAG AUUUG	1531
AD-67581.5	cscsuauuAfaUfGfGfucagacug uuL96	1352	asAfsagUfcUfGfaccUfuAfaugsg sc	1442	GCCCUAUUAAUGGUCAGA CUGUU	1532
AD-519753.1	usgsagcuGfaGfUfUfguuuuu uguL96	1353	asCfsauaAfaAfCfcaacUfcAfgcucasg sa	1443	UCUGAGCUGAGUUGGUUU UAUGA	1533
AD-518701.1	asuscuuCfaUfCfCfauccuuca auL96	1354	asUfsugaAfgGfAfuggaUfgGfaagaus gsc	1444	GCAUCUCCAUCUCCAUCU UCAAC	1534

AD-519752.1	csusgagcUfgAfGfUfugguuuu auuL96	1355	asAfsuaaAfaCfCfaacuCfaGfcucagsa sg	1445	CUCUGAGCUGAGUUGGUU UUAUG	1535
AD-519328.1	csasagauUfuGfCfAfacuugcua cuL96	1356	asGfsuagCfaAfGfuugcAfaAfucuu csu	1446	AGCAAGAUUUGCAACUUG CUACC	1536
AD-519322.1	ascsaugaGfcAfAfGfauuugcaa cuL96	1357	asGfsuugCfaAfAfucuuGfcUfcaugus asu	1447	AUACAUGAGCAAGAUUUG CAACU	1537
AD-519911.1	csusauuaAfuGfGfUfcagacugu uuL96	1358	asAfsacaGfuCfUfgaccAfuUfaauagsg sg	1448	CCCUAUUAAUGGUCAGAC UGUUC	1538
AD-519029.1	asgsggaaCfcUfCfUfaccuucuc uuL96	1359	asAfsagagAfaGfGfuagaGfgUfuccus gsu	1449	ACAGGGAACCUCUACCUU CUCUC	1539
AD-519913.1	asusaaauGfgUfCfAfgacuguuc cuL96	1360	asGfsgaaCfaGfUfcugaCfcAfuuaausa sg	1450	CUAUUAAUGGUCAGACUG UUGCA	1540
AD-518924.1	csasacguAfcCfCfUfucuuugau guL96	1361	asCfsaucAfaUfGfaaggGfuAfcguugs usc	1451	GACAACGUACCCUUCAUU GAUGC	1541
AD-519766.1	ususuuauGfaAfAfAfgcuaggaa guL96	1362	asCfsuucCfuAfGfcuuuUfcAfuaaaasc sc	1452	GGUUUUAUGAAAAGCUAG GAAGC	1542
AD-519069.1	usasugccUfuCfGfAfggauuuu guL96	1363	asCfsaaaUfaUfCfcucgAfaGfgcauasu sc	1453	GAUAUGCCUUCGAGGAUA UUUGG	1543
AD-519614.1	csusccacCfuUfUfCfccaguuuu uuL96	1364	asAfsaaaAfcUfGfggaaAfgGfuggagsa sg	1454	CUCUCCACCUUCCAGU UUUUC	1544
AD-519618.1	ascscuuuCfcCfAfGfuuuuucac uuL96	1365	asAfsugagAfaAfAfacugGfgAfaaggus gsg	1455	CCACCUUCCAGUUUUU CACUA	1545
AD-519326.1	asgscaagAfuUfUfGfcaacuugc uuL96	1366	asAfsagcaAfgUfUfgcaaAfuCfuugcusc sa	1456	UGAGCAAGAUUUGCAACU UGCUA	1546
AD-518920.1	gsusgacaAfcGfUfAfccuucacu uuL96	1367	asAfsaugAfaGfGfguacGfuUfgucacs usc	1457	GAGUGACAACGUACCCU CAUUG	1547
AD-519760.1	asgsuuggUfuUfUfAfugaaaagc uuL96	1368	asAfsagcuUfuUfCfauaaAfaCfcaacusc sa	1458	UGAGUUGGUUUUAUGAA AAGCUA	1548
AD-518813.1	csgsuucuGfgUfGfUfcugacuuu cuL96	1369	asGfsaaaGfuCfAfgacaCfcAfgaacgsu su	1459	AACGUUCUGGUGUCUGAC UUUCG	1549
AD-519396.1	uscsugccAfuUfGfCf gauugucc auL96	1370	asUfsggaCfaAfUfcgcaAfuGfgcagasu su	1460	AAUCUGCCAUGCGAUUG UCCAG	1550
AD-519935.1	csasugagGfuUfCfUfuagaauga cuL96	1371	asGfsucaUfuCfUfaagaAfcCfucaugsc su	1461	AGCAUGAGGUUCUAGAA UGACA	1551

AD-519758.1	usgsaguuGfgUfUfUfuaugaaaa guL96	1372	asCfsuuuUfcAfUfaaaaCfcAfacucasg sc	1462	GCUGAGUUGGUUUUAUGA AAAGC	1552
AD-518831.1	csngsuccAfaAfGfAfcgaagucg uuL96	1373	asAfcgaCfuUfcfgucuUfuGfgaccgsa sa	1463	UUCGGUCCAAAGACGAAG UCGUG	1553
AD-518923.1	ascsaacgUfaCfCfCfucauuga uuL96	1374	asAfsucaAfuGfAfaaggUfaCfguugus csa	1464	UGACAACGUACCCUUCAU UGAUG	1554
AD-519755.2	asgscugaGfuUfGfGfuuuuauuga auL96	1375	asUfsucaUfaAfafaccaAfcUfcagcusc sa	1465	UGAGCUGAGUUGGUUUUA UGAAA	1555
AD-520116.1	usgsugaaUfcAfGfUfgagaugu auL96	1376	asUfsaacAfuCfUfcacuGfaUfucacasu sa	1466	UAUGUGAAUCAGUGAGAU GUUAG	1556
AD-519093.1	asusucagGfuUfCfUfuggaagag auL96	1377	asUfscucUfuCfCfaagaAfcCfugaausg sc	1467	GCAUUCAGGUUCUUGGAA GAGAA	1557
AD-67588.2	asascguuCfuGfGfUfgucugacu uuL96	1378	asAfsaguCfaGfAfcaccAfgAfacguusu su	1468	AAAACGUUCUGGUGUCUG ACUUU	1558
AD-519754.3	gsasgcugAfgUfUfGfguuuuau gauL96	1379	asUfscauAfaAfafccaaCfuCfagcucsa sg	1469	CUGAGCUGAGUUGGUUUU AUGAA	1559
AD-519308.1	asagacaAfaGfGfUfggauacau guL96	1380	asCfsaugUfaUfCfcaccUfuUfgucuusu sc	1470	GAAAGACAAAGGUGGAUA CAUGA	1560
AD-519759.1	gsasguugGfuUfUfUfaugaaaag cuL96	1381	asGfscuuUfuCfAfuaaaAfcCfaacucsa sg	1471	CUGAGUUGGUUUUAUGAA AAGCU	1561
AD-519763.1	usgsuuuUfaUfGfAfaagcuag guL96	1382	asCfscuaGfcUfUfuucaUfaAfaaccasa sc	1472	GUUGGUUUUAUGAAAAGC UAGGA	1562
AD-519327.1	gscsaagaUfuUfGfCfaacuugcu auL96	1383	asUfsagcAfaGfUfugcaAfaUfcuugcsu sc	1473	GAGCAAGAUUUGCAACUU GCUAC	1563
AD-519761.1	gsusugguUfuUfAfUfgaaaagcu auL96	1384	asUfsagcUfuUfUfcauaAfaAfccaacsu sc	1474	GAGUUGGUUUUAUGAAA AGCUAG	1564
AD-518702.1	uscsuuccAfuCfCfAfuccuucuaa cuL96	1385	asGfsuugAfaGfGfauggAfuGfgaagas usg	1475	CAUCUCCAUCCAUCUU CAACU	1565
AD-519094.1	ususcaggUfuCfUfUfggaagaga auL96	1386	asUfsucuCfuUfCfcaagAfaCfcugaasu sg	1476	CAUUCAGGUUCUUGGAAG AGAAG	1566
AD-518832.1	gsgsuccaAfaGfAfCfgaagucgu guL96	1387	asCfsacgAfcUfUfcgucUfuUfggaccsg sa	1477	UCGGUCCAAAGACGAAGU CGUGG	1567
AD-519767.1	ususuauGfaAfAfGfcuaggaag cuL96	1388	asGfscuuCfcUfAfgcuUfuCfauaaasa sc	1478	GUUUUAUGAAAAGCUAGG AAGCA	1568

AD-518917.1	usgsagugAfcAfAfCfguacccuucL96	1389	asGfsaagGfgUfAfcguuGfuCfacucasc su	1479	AGUGAGUGACAACGUACC CUUCA	1569
AD-518988.1	csusucauGfuGfGfAfaucacca auL96	1390	asUfsuggUfgAfUfguccAfcAfugaags asa	1480	UUCUUCAUGUGGACAUCA CCAAG	1570
AD-519305.1	usgsaaagAfcAfAfAfgguggau cuL96	1391	asGfsuauCfcAfCfcuuuGfuCfuucasu su	1481	AAUGAAAGACAAAGGUGG AUACA	1571
AD-519613.1	uscsuccaCfcUfUfUfccaguuu uuL96	1392	asAfsaaaCfuGfGfgaaaGfgUfggagasg sc	1482	GCUCUCCACCUUCCCAG UUUUU	1572
AD-519121.1	cscsugaaGfuCfAfUfccucagaa guL96	1393	asCfsuucUfgAfGfgaugAfcUfucaggs csc	1483	GGCCUGAAGUCAUCCUCA GAAGG	1573
AD-519095.1	uscsgguUfcUfUfGfgaagagaa guL96	1394	asCfsuucUfcUfUfcaaaGfaAfccugasa su	1484	AUUCAGGUUCUUGGAAGA GAAGG	1574
AD-518982.1	asascuuuCfuUfCfAfuguggaca uuL96	1395	asAfsuguCfcAfCfaugaAfgAfaaguusc sg	1485	CGAACUUUCUUCAUGUGG ACAUC	1575
AD-519096.1	csasgguuCfuUfGfGfaagagaag guL96	1396	asCfscuuCfuCfUfuccaAfgAfacugsa sa	1486	UUCAGGUUCUUGGAAGAG AAGGG	1576
AD-518986.1	ususcuucAfuGfUfGfgacaucac cuL96	1397	asGfsgugAfuGfUfccacAfuGfaagaasa sg	1487	CUUUCUUCAUGUGGACAU CACCA	1577
AD-518921.1	usgsacaaCfgUfAfCfccuucuu guL96	1398	asCfsaauGfaAfGfgguaCfgUfugucasc su	1488	AGUGACAACGUACCCUUC AUUGA	1578
AD-518985.1	ususucuuCfaUfGfUfggacauca cuL96	1399	asGfsugaUfgUfCfcacaUfgAfagaaasg su	1489	ACUUUCUUCAUGUGGACA UCACC	1579
AD-518984.1	csusuucuUfcAfUfGfuggacauc auL96	1400	asUfsgauGfuCfCfacauGfaAfgaaagsu su	1490	AACUUUCUUCAUGUGGAC AUCAC	1580
AD-519325.1	gsasgcaaGfaUfUfUfgcaacuug cuL96	1401	asGfscaaGfuUfGfcaaaUfcUfugcucsa su	1491	AUGAGCAAGAUUUGCAAC UUGCU	1581
AD-518812.1	asesguucUfgGfUfGfucugacuu uuL96	1402	asAfsaagUfcAfGfacacCfaGfaacgusu su	1492	AAACGUUCUGGUGUCUGA CUUUC	1582
AD-518987.1	uscsuucaUfgUfGfGfacaucacc auL96	1403	asUfsgguGfaUfGfuccaCfaUfgaagasa sa	1493	UUUCUUCAUGUGGACAUC ACCAA	1583
AD-518958.1	csasucugCfcCfUfAfaagucaag uuL96	1404	asAfsuuGfaCfUfuuagGfgCfagaugs usc	1494	GACAUCUGCCCUGAAAGUC AAGUC	1584
AD-67572.2	ususcuuuCfaGfAfGfgugcuaaa guL96	1405	asCfsuuuAfgCfAfcucUfgAfaagaasu sc	1495	GAUUCUUUCAGAGGUGCU AAAGU	1585

AD-518980.1	csgsaacuUfuCfUfUfcauguggacuL96	1406	asGfsuccAfcAfUfgaagAfaAfguucgsusg	1496	CACGAACUUUCUUCAUGUGGACA	1586
AD-519070.1	asusgccuUfcGfAfGfgauuuugguL96	1407	asCfscaaAfuAfUfccucGfaAfggcausa su	1497	AUAUGCCUUCGAGGAUUAUUGGA	1587
AD-518925.1	asascguaCfcCfUfUfcauugaugcuL96	1408	asGfscauCfaAfUfgaagGfgUfacguusgsu	1498	ACAACGUACCCUUCAUUGAUGCC	1588
AD-518981.1	gsasacuuUfcUfUfCfauguggacauL96	1409	asUfsgucCfaCfAfugaaGfaAfaguucsgsu	1499	ACGAACUUUCUUCAUGUGGACAU	1589

**Таблица 10. Немодифицированные смысловые и антисмысловые последовательности средств на основе дсРНК PNPLA3**

Название Дуплекса	Смысловая последовательность от 5' до 3'	SEQ ID NO:	Позиции	Антисмысловая последовательность от 5' до 3'	SEQ ID NO:	Позиции
AD-521086.1	ACAGGGAACCUCUACCUUU	1590	819-837	AAAGGUAGAGGUUCCUGU	1626	819-837
AD-805632.1	ACAGGGAACCUCUACCUUU	1591		AAAGGUAGAGGUUCCUGU	1627	
AD-805644.1	ACAGGGAACCUCUACCUUU	1592		AAAGGUAGAGGUUCCUGU	1628	
AD-521465.1	CCAUUGCGAUUGUCCAGAU	1593	1267-1285	AUCUGGACAAUCGCAAUGG	1629	1267-1285
AD-805631.1	CCAUUGCGAUUGUCCAGAU	1594		AUCUGGACAAUCGCAAUGG	1630	
AD-805643.1	CCAUUGCGAUUGUCCAGAU	1595		AUCUGGACAAUCGCAAUGG	1631	
AD-520902.1	CGAAGUCGUGGAUGCCUUU	1596	581-599	AAAGGCAUCCACGACUUCG	1632	581-599
AD-805634.1	CGAAGUCGUGGAUGCCUUU	1597		AAAGGCAUCCACGACUUCG	1633	
AD-805646.1	CGAAGUCGUGGAUGCCUUU	1598		AAAGGCAUCCACGACUUCG	1634	
AD-522140.1	CUUUUUCACCUAACUAAA	1599	2182-2200	AUUUAGUUAGGUGAAAAAG	1635	2182-2200
AD-805635.1	CUUUUUCACCUAACUAAA	1600		AUUUAGUUAGGUGAAAAAG	1636	
AD-805647.1	CUUUUUCACCUAACUAAA	1601		AUUUAGTUAGGUGAAAAAG	1637	
AD-520903.1	GAAGUCGUGGAUGCCUUGU	1602	582-600	ACAAGGCAUCCACGACUUC	1638	582-600
AD-805628.1	GAAGUCGUGGAUGCCUUGU	1603		ACAAGGCAUCCACGACUUC	1639	
AD-805640.1	GAAGUCGUGGAUGCCUUGU	1604		ACAAGGCAUCCACGACUUC	1640	
AD-520973.1	GAGUGAGUGACAACGUACU	1605	676-694	AGUACGUUGUCACUCACUC	1641	676-694
AD-805625.1	GAGUGAGUGACAACGUACU	1606		AGUACGUUGUCACUCACUC	1642	
AD-805637.1	GAGUGAGUGACAACGUACU	1607		AGUACGTUGUCACUCACUC	1643	
AD-521129.1	GAUAUGCCUUCGAGGAUUAU	1608	881-899	AUAUCCUCGAAGGCAUAUC	1644	881-899

AD-805630.1	GAUAUGCCUUCGAGGAUUAU	1609		AUAUCCUCGAAGGCAUAUC	1645	
AD-805642.1	GAUAUGCCUUCGAGGAUUAU	1610		AUAUCCTCGAAGGCAUAUC	1646	
AD-521124.1	GGAGAGAU AUGCCUUCGAU	1611	876-894	AUCGAAGGCAUAUCUCUCC	1647	876-894
AD-805626.1	GGAGAGAU AUGCCUUCGAU	1612		AUCGAAGGCAUAUCUCUCC	1648	
AD-805638.1	GGAGAGAU AUGCCUUCGAU	1613		AUCGAAGGCAUAUCUCUCC	1649	
AD-521420.1	GGAAU AUGUCUUAUGUAA U	1614		AUUACAUAAGACAUAUUAUCC	1650	
AD-805624.1	GGAAU AUGUCUUAUGUAA U	1615	AUUACAUAAGACAUAUUAUCC	1651		
AD-805636.1	GGAAU AUGUCUUAUGUAA U	1616	AUUACATAAGACAUAUUAUCC	1652		
AD-521840.1	GGUUUUAUGAAAAGCUAG U	1617	1753-1771	ACUAGCUUUUCAUAAAACC	1653	1753-1771
AD-805629.1	GGUUUUAUGAAAAGCUAG U	1618		ACUAGCUUUUCAUAAAACC	1654	
AD-805641.1	GGUUUUAUGAAAAGCUAG U	1619		ACUAGCTUUUCAUAAAACC	1655	
AD-521409.1	UGCACCCAUAUAGGAUAAU	1620	1207-1225	AUUAUCCUAAUGGGUAGCA	1656	1207-1225
AD-805633.1	UGCACCCAUAUAGGAUAAU	1621		AUUAUCCUAAUGGGUAGCA	1657	
AD-805645.1	UGCACCCAUAUAGGAUAAU	1622		AUUAUCCUAAUGGGUAGCA	1658	
AD-521486.1	UGGUGACAUGGCUUCCAGU	1623	1288-1306	ACUGGAAGCCAUGUCACCA	1659	1288-1306
AD-805627.1	UGGUGACAUGGCUUCCAGU	1624		ACUGGAAGCCAUGUCACCA	1660	
AD-805639.1	UGGUGACAUGGCUUCCAGU	1625		ACUGGAAGCCAUGUCACCA	1661	

**Таблица 11. Модифицированные смысловые и антисмысловые последовательности средств на основе дсРНК PNPLA3**

Название дуплекса	Смысловая последовательность	SEQ ID NO:	Антисмысловая последовательность	SEQ ID NO:	целевая последовательность мРНК	SEQ ID NO:
AD-521086.1	ACAGGGAACCUCUACCUUd TdT	1662	AAAGGUAGAGGUUCCCUGUd TdT	1698	ACAGGGAACCUCUACCU UC	1734
AD-805632.1	ascsagggAfaCfCfUfcuaccuuuL96	1663	asAfsaggUfagagguuCfcCfugu	1699		
AD-805644.1	ascsagggAfaCfCfUfcuaccuuuL96	1664	asAfsaggUf(Agn)gagguuCfcCfugu	1700		
AD-521465.1	CCAUUGCGAUUGUCCAGAUd	1665	AUCUGGACAAUCGCAAUGGdT	1701	CCAUUGCGAUUGUCCAG	1735



	TdT		dT		AG	
AD-805631.1	cscsauugCfgAfUfUfguccagauL96	1666	asUfscugGfacaaucgCfaAfugg	1702		
AD-805643.1	cscsauugCfgAfUfUfguccagauL96	1667	asUfscugGf(Agn)caaucgCfaAfugg	1703		
AD-520902.1	CGAAGUCGUGGAUGCCUUd TdT	1668	AAAGGCAUCCACGACUUCGdT dT	1704	CGAAGUCGUGGAUGCCU UG	1736
AD-805634.1	csgsaaguCfgUfGfGfaugccuuuL96	1669	asAfsaggCfauccacgAfcUfucg	1705		
AD-805646.1	csgsaaguCfgUfGfGfaugccuuuL96	1670	asAfsaggCf(Agn)uccacgAfcUfucg	1706		
AD-522140.1	CUUUUUCACCUAACUAAAud TdT	1671	AUUUAGUUAGGUGAAAAAGdT TdT	1707	CUUUUUCACCUAACUA AA	1737
AD-805635.1	csusuuuuCfaCfCfUfaacuaaaL96	1672	asUfsuuaGfuuaggugAfaAfaag	1708		
AD-805647.1	csusuuuuCfaCfCfUfaacuaaaL96	1673	asUfsuuaGf(Tgn)uaggugAfaAfaag	1709		
AD-520903.1	GAAGUCGUGGAUGCCUUGud TdT	1674	ACAAGGCAUCCACGACUUCdT dT	1710	GAAGUCGUGGAUGCCU GG	1738
AD-805628.1	gsasagucGfuGfGfAfugccuuguL96	1675	asCfsaagGfcauccacGfaCfuuc	1711		
AD-805640.1	gsasagucGfuGfGfAfugccuuguL96	1676	asCfsaagGf(Cgn)auccacGfaCfuuc	1712		
AD-520973.1	GAGUGAGUGACAACGUACud TdT	1677	AGUACGUUGUCACUCACUCdT dT	1713	GAGUGAGUGACAACGU CC	1739
AD-805625.1	gsasgugaGfuGfAfCfaacguacuL96	1678	asGfsuacGfuugucacUfcAfcuc	1714		
AD-805637.1	gsasgugaGfuGfAfCfaacguacuL96	1679	asGfsuacGf(Tgn)ugucacUfcAfcuc	1715		
AD-521129.1	GAUAUGCCUUCGAGGAUAud TdT	1680	AUAUCCUCGAAGGCAUAUCdT dT	1716	GAUAUGCCUUCGAGGA AU	1740
AD-805630.1	gsasuaugCfcUfUfCfaggauauL96	1681	asUfsaucCfucgaaggCfaUfauc	1717		
AD-805642.1	gsasuaugCfcUfUfCfaggauauL96	1682	asUfsaucCf(Tgn)cgaaggCfaUfauc	1718		
AD-521124.1	GGAGAGAU AUGCCUUCGAud TdT	1683	AUCGAAGGCAUAUCUCUCCdT dT	1719	GGAGAGAU AUGCCUUC AG	1741
AD-805626.1	gsgsagagAfuAfUfGfccuucgauL96	1684	asUfscgaAfggcgauauCfuCfucc	1720		
AD-805638.1	gsgsagagAfuAfUfGfccuucgauL96	1685	asUfscgaAf(Ggn)gcgauauCfuCfucc	1721		
AD-521420.1	GGAAU AUGUCUUAUGUAAU dTdT	1686	AUUACAUAAGACAUAUCCdT dT	1722	GGAAU AUGUCUUAUGU AU	1742
AD-805624.1	gsgsauaaUfgUfCfUfuauguaauL96	1687	asUfsuacAfuaagacaUfuAfucc	1723		
AD-805636.1	gsgsauaaUfgUfCfUfuauguaauL96	1688	asUfsuacAf(Tgn)aagacaUfuAfucc	1724		

AD-521840.1	GGUUUUAUGAAAAGCUAGU dTdT	1689	ACUAGCUUUUCAUAAAACCD dT	1725	GGUUUUAUGAAAAGCUA GG	1743
AD-805629.1	gsgsuuuuAfuGfAfAfaagcuaguL96	1690	asCfsuagCfuuuucauAfaAfac	1726		
AD-805641.1	gsgsuuuuAfuGfAfAfaagcuaguL96	1691	asCfsuagCf(Tgn)uuucauAfaAfac	1727		
AD-521409.1	UGCACCCAUUAGGAUAAUd TdT	1692	AUUAUCCUAAUGGGUAGCAd TdT	1728	UGCACCCAUUAGGAUA AU	1744
AD-805633.1	usgscuacCfcAfUfUfaggauaaL96	1693	asUfsuauCfcuaauggGfuAfgca	1729		
AD-805645.1	usgscuacCfcAfUfUfaggauaaL96	1694	asUfsuauCf(Cgn)uaauggGfuAfgca	1730		
AD-521486.1	UGGUGACAUGGCUUCCAGUd TdT	1695	ACUGGAAGCCAUGUCACCAdT dT	1731	UGGUGACAUGGCUUCCA GA	1745
AD-805627.1	usgsgugaCfaUfGfGfcuuccaguL96	1696	asCfsuggAfagccaugUfcAfcca	1732		
AD-805639.1	usgsgugaCfaUfGfGfcuuccaguL96	1697	asCfsuggAf(Agn)gccaugUfcAfcca	1733		

Таблица 12. Скрининг однократной дозы (нацеленной на PNPLA3) в клетках Cos-7 (вектор человеческой двойной люциферазы psiCHECK2). ST DEV- стандартное отклонение

ID дуплекса	50 нМ		10 нМ		1 нМ		0.1 нМ	
	% остаточного сигнала	ST DEV	% остаточного сигнала	ST DEV	% остаточного сигнала	ST DEV	% остаточного сигнала	ST DEV
AD-517197.1	17.0	7.0	15.4	3.4	41.0	13.9	77.8	16.2
AD-516851.1	22.8	5.7	38.8	15	63.1	16.0	94.6	6.8
AD-516748.1	26.8	15.5	61.7	10.7	59.0	38.3	95.4	27.2
AD-517234.1	31.1	7.3	39.2	3	69.0	10.0	98.7	18.5
AD-517354.1	32.0	7.4	42	9.8	102.2	29.0	98.4	15.4
AD-517257.1	33.3	7.5	41.8	12.3	63.9	16.7	96.8	12.4
AD-516739.1	33.3	10.2	50.7	9	85.6	21.7	110.6	13.9
AD-517258.1	35.2	14.3	27.9	6.3	66.6	20.7	94.2	10.4
AD-516629.1	36.5	8.3	47.6	13.2	94.6	9.0	126.1	22
AD-516972.1	37.0	12.8	51.5	1.6	113.3	23.9	135.9	22.9
AD-517623.1	37.5	12.5	55.9	7	76.6	25.6	96.9	12.7
AD-516733.1	37.7	11.4	47.4	14.4	87.2	7.0	96.5	13
AD-517985.1	40.4	9.2	51.2	10.3	78.6	13.9	98.4	14.4
AD-516827.1	40.7	24.3	60.1	27.3	81.5	45.6	90.2	9.2
AD-516917.1	42.1	13.8	35.1	8.3	69.4	15.4	99.6	22.2
AD-516973.1	43.0	2.8	70.8	9.6	100.4	17.1	114.4	24.2
AD-516978.1	44.3	18.5	46.1	18.4	76.2	6.9	99	13
AD-517310.1	45.5	15.4	61.1	13	89.7	10.9	128.5	14.6
AD-516828.1	46.2	12.1	55.8	12.6	95.9	15.9	120.4	30.5
AD-517249.1	46.6	14.7	37.6	9	84.3	9.6	115.2	19.5
AD-517196.1	47.5	14.0	55.2	7.3	82.3	13.5	116.3	22.9
AD-517322.1	47.7	13.6	89.7	23.1	101.5	21.4	95.9	5.6
AD-517319.1	48.4	29.0	70	24.7	90.6	15.9	125.1	5.6
AD-516822.1	49.1	15.4	44.3	12.6	78.6	12.3	100	11.9
AD-516826.1	50.6	17.1	73.2	20.1	90.1	4.2	115.9	13.8
AD-516824.1	51.5	7.7	67.1	6.6	99.4	24.5	112.9	11.6
AD-517517.1	51.5	11.0	80.6	16	79.8	17.5	113.5	7.3
AD-517758.1	52.1	17.6	69.2	3.1	109.3	5.7	106.9	6.5
AD-516940.1	52.6	27.2	82.7	27.6	79.6	15.9	88.6	15.7
AD-517318.1	54.1	23.3	54.6	14.1	105.9	13.4	102.4	22.4
AD-517321.1	54.3	22.5	63.6	32.3	92.5	6.7	98.5	11
AD-516747.1	54.3	22.4	62.2	12.2	79.6	16.4	126.5	11.9
AD-516737.1	54.4	4.2	74.3	19.7	76.8	6.9	93.4	13.4
AD-516742.1	54.6	12.8	70.8	10	115.8	28.5	104	19.3
AD-516977.1	55.6	20.2	63.4	15.1	83.6	11.5	97.4	22.3
AD-516823.1	56.5	24.3	65.8	16.6	85.9	18.5	90.8	8.6
AD-516871.1	56.9	17.2	62.6	9.3	101.4	18.0	113.7	18.5
AD-516771.1	57.1	8.8	66.2	10.6	82.1	9.6	100.8	19.5

AD-517757.1	57.5	9.1	72.6	9	100.2	5.8	97.6	7.1
AD-516745.1	58.3	31.2	60.6	12.4	91.2	11.5	133	33.3
AD-517830.1	60.1	18.0	75.2	11.8	85.7	5.7	92	13
AD-516970.1	60.7	9.9	81.7	18.6	104.3	5.3	100.2	4.8
AD-517768.1	61.9	5.8	89.5	20	109.8	32.6	113.8	31.4
AD-517259.1	62.4	29.7	73.9	13.4	94.2	26.1	95.2	27.4
AD-516979.1	65.1	18.5	70.3	34.6	92.6	17.3	101.3	15.6
AD-516971.1	65.2	39.8	81.4	26.5	107.8	8.6	126	56.3
AD-517838.1	66.5	7.3	57	12	96.9	21.2	113.8	8.1
AD-516743.1	66.5	10.8	76.9	20.6	74.9	9.3	110.1	14.2
AD-516980.1	66.8	32.1	73.1	12.6	110.6	4.4	111.4	5.9
AD-517771.1	67.7	18.0	77.6	20.1	91.0	21.5	99	6
AD-516772.1	69.8	9.1	74	10.6	111.8	30.0	103.9	17.8
AD-517836.1	69.9	40.1	69	20.6	97.2	32.9	115.4	22.5
AD-516741.1	69.9	24.6	96.6	22.8	100.4	13.9	125.8	20.3
AD-517353.1	70.7	27.0	93.2	10.7	98.8	21.7	116	24.8
AD-517979.1	72.5	10.1	88	26.7	113.4	6.8	139	10.6
AD-516937.1	73.5	14.3	71.5	12.7	92.2	18.2	115.9	12.9
AD-516976.1	73.5	38.4	59.6	12.7	73.5	4.8	90	12.7
AD-516872.1	73.6	37.1	56.2	10.9	87.7	20.6	101.1	19
AD-517256.1	73.9	24.1	98.1	8.7	105.0	10.9	99.6	6.7
AD-516825.1	74.1	11.0	84.8	25.3	100.9	25.6	102	13.4
AD-516735.1	74.5	7.3	98.9	6.8	95.4	12.5	98.8	10.7
AD-516588.1	75.2	28.1	88.5	13	112.2	18.2	122.4	25.5
AD-516738.1	75.6	15.0	85.1	17	89.8	27.8	131.4	32.6
AD-517314.1	76.8	24.6	69.7	18	81.0	16.6	93.2	10.4
AD-517805.1	76.9	9.4	70.6	9	112.4	26.3	96.4	17.7
AD-517685.1	78.3	22.9	64.6	6.6	98.6	12.9	108.2	19.8
AD-517831.1	78.8	13.5	91.4	18.1	118.3	21.8	131.6	23.2
AD-516830.1	78.9	9.0	81.5	22.5	91.1	17.5	108	32.5
AD-517837.1	79.5	53.8	68.2	22.7	97.8	33.2	96.8	12.9
AD-517633.1	81.1	21.5	89.9	10.7	91.2	17.6	93.9	9.4
AD-516855.1	81.3	21.1	74.4	11.6	93.0	19.8	111	9.5
AD-516688.1	83.0	33.6	69.9	9.3	80.1	10.5	106.2	13.8
AD-516630.1	86.4	33.1	82	22.2	69.8	23.2	92	15.4
AD-516835.1	86.8	17.0	70.5	13.3	103.1	17.2	101.4	8.2
AD-516832.1	87.4	14.5	100	20.5	108.9	11.7	127.3	24.9
AD-517834.1	88.9	21.8	73.9	9.1	90.4	13.8	79.3	8.5
AD-516734.1	89.7	19.7	88.3	12.6	98.6	5.2	103.4	23.2
AD-517228.1	89.7	14.3	83.5	17.5	101.4	19.9	118.8	17
AD-516736.1	93.2	12.9	90.2	19.6	115.9	14.4	106.7	5.4
AD-517646.1	93.8	38.8	71.9	18.9	104.5	24.7	100.1	10.7
AD-517744.1	95.6	10.2	80.5	10.4	85.3	14.9	99.9	16
AD-517509.1	96.7	20.8	108	11.2	95.6	15.9	124.2	20.1
AD-517746.1	97.6	13.6	79.3	19.8	91.4	16.7	94	17.1
AD-516752.1	99.9	29.7	94	25.5	105.4	18.9	117.7	13.1

AD-516746.1	100.3	19.5	80.5	14.1	100.5	22.4	116.2	6.8
AD-517227.1	102.2	25.7	79.3	10	90.6	22.5	115.3	21.8
AD-516751.1	54.2	31.7	51.8	11.2	91.2	8.5	125.7	19.2
AD-517042.1	102.4	31.9	64.7	8.2	90.2	6.3	113.1	19.6
AD-517571.1	85.2	54.8	88.7	17.9	87.5	8.1	93.3	6.4

**Таблица 13. Скрининг однократной дозы (нацеленной на PNPLA3) в клетках Cos-7 (вектор человеческой двойной люциферазы psiCHECK2). ST DEV- стандартное отклонение**

ID дуплекса	50 нМ		10 нМ		1 нМ		0.1 нМ	
	% остаточного сигнала	ST DEV	% остаточного сигнала	ST DEV	% остаточного сигнала	ST DEV	% остаточного сигнала	ST DEV
AD-67605.6	7.2	7.9	34.8	14.9	66.5	24.1	93.0	19.7
AD-520101.1	13.0	10.3	39.4	18.8	77.1	12.9	74.1	23.0
AD-520098.1	18.5	5.3	65.4	41.4	68.0	30.3	114.7	42.8
AD-67575.6	19.3	6.6	33.8	23.9	89.4	29.7	105.2	38.7
AD-520467.1	20.5	13.6	46.8	19.1	72.7	12.1	133.1	81.1
AD-520064.1	21.2	4.3	29.5	9.0	58.8	6.1	110.0	23.0
AD-520099.1	21.2	13.1	64.7	9.7	61.3	22.5	100.6	38.3
AD-520466.1	22.2	10.3	52.4	8.8	77.4	24.1	141.2	54.5
AD-519351.1	22.9	18.1	28.3	6.7	50.3	18.5	91.2	43.4
AD-520065.1	23.4	21.2	49.6	5.2	55.3	24.7	90.4	11.3
AD-520069.1	23.8	18.5	65.1	5.3	98.6	21.1	134.8	27.2
AD-519828.1	23.9	23.3	41.5	24.7	100.1	24.7	99.6	21.4
AD-520035.1	25.8	18.4	57.3	24.0	106.9	34.4	100.2	27.7
AD-520067.1	28.5	24.7	38.1	17.6	63.1	20.7	96.6	20.9
AD-75289.2	28.5	16.3	44.1	20.5	81.8	18.6	82.1	7.3
AD-520125.1	29.4	15.6	57.1	10.4	76.6	14.5	155.3	45.2
AD-520018.1	29.9	6.3	32.0	16.0	66.1	19.8	101.4	39.1
AD-520062.1	31.4	9.1	53.5	36.7	66.8	23.2	74.9	14.7

AD-519754.1	32.6	7.3	86.3	24.9	98.3	27.4	99.9	16.2
AD-520097.1	35.2	16.8	38.7	9.5	95.2	34.8	123.6	33.6
AD-520352.1	37.0	14.5	63.4	19.8	77.9	26.9	105.2	25.3
AD-519755.1	38.8	21.4	48.7	19.1	101.4	25.3	130.8	48.1
AD-520063.1	40.2	12.8	58.5	39.1	56.3	19.0	107.1	24.9
AD-520066.1	43.2	13.7	40.5	11.4	58.2	18.3	115.4	46.6
AD-520068.1	46.8	22.3	53.0	43.8	68.9	41.3	90.5	40.0
AD-520465.1	66.5	14.2	101.1	35.3	71.4	32.2	88.7	12.6
AD-519592.1	67.2	13.0	99.4	40.7	69.9	16.9	87.1	23.7
AD-519591.1	75.9	33.3	79.8	23.0	95.9	36.6	89.6	33.9

**Таблица 14. Скрининг однократной дозы (нацеленной на PNPLA3) в клетках НерЗВ**

(SD- стандартное отклонение)

Дуплекс	Средний % Остаточного Сигнала	SD	Доза (нМ)
AD-519351.1	18.91743	1.592235	50
AD-519591.1	30.15831	4.008696	50
AD-519592.1	49.60929	3.258342	50
AD-519754.1	29.95629	3.489596	50
AD-519755.1	32.7814	3.836985	50
AD-519828.1	25.91768	2.010603	50
AD-520018.1	17.85763	0.704719	50
AD-520035.1	13.40537	0.824367	50
AD-520062.1	16.07361	2.76391	50
AD-520063.1	42.26994	7.472034	50
AD-520064.1	32.07188	6.038421	50
AD-520065.1	41.04576	7.358829	50
AD-520066.1	49.84015	4.399835	50
AD-520067.1	32.29406	2.439182	50
AD-520068.1	34.46787	3.933021	50
AD-520069.1	50.74699	7.696823	50
AD-520097.1	37.05357	3.157405	50
AD-520098.1	43.45243	7.096347	50
AD-520099.1	34.3067	6.026941	50
AD-520101.1	34.10031	2.946968	50
AD-520125.1	37.9648	5.052388	50
AD-520352.1	55.35492	5.581261	50

AD-520465.1	116.2403	11.93776	50
AD-520466.1	50.49998	5.242516	50
AD-520467.1	57.64928	4.998672	50
AD-67575.6	32.8979	5.107761	50
AD-67605.6	30.30416	5.607134	50
AD-75289.2	37.28977	7.002537	50
AD-519351.1	28.011	2.78131	10
AD-519591.1	48.39234	9.625783	10
AD-519592.1	67.92064	14.89226	10
AD-519754.1	51.1618	7.649766	10
AD-519755.1	41.00894	4.838157	10
AD-519828.1	39.08326	3.07126	10
AD-520018.1	14.21871	7.205605	10
AD-520035.1	17.60407	3.934564	10
AD-520062.1	25.84533	3.490245	10
AD-520063.1	42.59087	3.989656	10
AD-520064.1	32.13541	3.984171	10
AD-520065.1	34.56078	6.902658	10
AD-520066.1	43.89564	5.960707	10
AD-520067.1	30.99356	5.829848	10
AD-520068.1	44.00221	5.902595	10
AD-520069.1	51.01245	6.208729	10
AD-520097.1	44.51291	6.137725	10
AD-520098.1	45.04234	3.412759	10
AD-520099.1	39.05479	4.499439	10
AD-520101.1	38.56051	7.725309	10
AD-520125.1	54.31024	10.76057	10
AD-520352.1	51.88458	9.725295	10
AD-520465.1	93.6487	8.10188	10
AD-520466.1	60.38535	6.422916	10
AD-520467.1	50.73771	8.167229	10
AD-67575.6	42.36839	6.376496	10
AD-67605.6	32.93356	4.534181	10
AD-75289.2	35.10034	4.252315	10
AD-519351.1	38.91029	6.73621	1
AD-519591.1	72.03301	8.409019	1
AD-519592.1	91.99647	6.557726	1
AD-519754.1	71.39233	10.16091	1
AD-519755.1	48.64478	8.703204	1
AD-519828.1	56.57794	8.681994	1
AD-520018.1	43.24255	12.35058	1
AD-520035.1	41.61261	9.606674	1
AD-520062.1	41.56298	7.015498	1
AD-520063.1	50.9099	8.41448	1
AD-520064.1	49.60309	8.547469	1

AD-520065.1	51.99888	13.42055	1
AD-520066.1	58.14913	6.189735	1
AD-520067.1	47.67786	4.442494	1
AD-520068.1	68.81371	17.00633	1
AD-520069.1	58.92955	8.034131	1
AD-520097.1	53.79314	4.302369	1
AD-520098.1	62.39227	4.285866	1
AD-520099.1	74.81884	4.665135	1
AD-520101.1	59.49561	9.59846	1
AD-520125.1	60.19627	4.672244	1
AD-520352.1	79.06617	11.33413	1
AD-520465.1	103.3435	26.3229	1
AD-520466.1	86.98648	21.00735	1
AD-520467.1	81.16465	23.24505	1
AD-67575.6	59.97269	7.272857	1
AD-67605.6	52.64283	5.165939	1
AD-75289.2	73.81446	13.1944	1
AD-519351.1	58.00814	5.565421	0.1
AD-519591.1	88.58883	14.40971	0.1
AD-519592.1	100.9556	9.227538	0.1
AD-519754.1	93.4398	15.32662	0.1
AD-519755.1	79.44622	3.664871	0.1
AD-519828.1	93.29187	9.598122	0.1
AD-520018.1	67.61844	8.626892	0.1
AD-520035.1	60.53901	5.277965	0.1
AD-520062.1	72.05043	8.551113	0.1
AD-520063.1	79.2352	11.96642	0.1
AD-520064.1	64.04505	10.59475	0.1
AD-520065.1	74.87369	15.32438	0.1
AD-520066.1	77.48361	11.28607	0.1
AD-520067.1	79.16226	8.228879	0.1
AD-520068.1	98.42636	29.19873	0.1
AD-520069.1	81.92734	10.02953	0.1
AD-520097.1	78.17625	13.3457	0.1
AD-520098.1	81.87427	12.05935	0.1
AD-520099.1	87.99157	22.24171	0.1
AD-520101.1	90.27513	9.407839	0.1
AD-520125.1	91.10768	17.63111	0.1
AD-520352.1	99.6731	4.089456	0.1
AD-520465.1	89.46856	1.073905	0.1
AD-520466.1	94.49258	4.863811	0.1
AD-520467.1	91.43145	12.05283	0.1
AD-67575.6	86.88788	17.45404	0.1
AD-67605.6	89.55684	14.21808	0.1
AD-75289.2	95.69357	10.92256	0.1



**Таблица 15. Скрининг однократной дозы (нацеленной на PNPLA3) в клетках Cos-7 (вектор человеческой двойной люциферазы psiCHECK2). ST DEV- стандартное отклонение**

ID дуплекса	50 нМ	
	% остаточного сигнала	ST DEV
AD-521420.1	12.6	5.2
AD-520973.1	13.0	9.6
AD-521124.1	15.6	12.7
AD-521486.1	17.6	4.6
AD-520903.1	17.6	14.3
AD-520972.1	17.6	7.4
AD-521421.1	17.7	6.7
AD-521840.1	17.8	3.3
AD-521003.1	18.1	6.4
AD-521129.1	18.9	5.7
AD-521465.1	19.2	10.1
AD-521086.1	19.5	7.9
AD-521409.1	20.5	12.1
AD-522178.1	20.6	11.7
AD-520974.1	22.0	8.0
AD-520902.1	24.1	9.4
AD-522140.1	24.3	4.9
AD-521410.1	25.6	7.2
AD-522548.1	26.1	3.8
AD-521002.1	26.1	9.0
AD-522176.1	27.2	5.2
AD-520926.1	28.1	12.4
AD-521895.1	28.3	7.9
AD-521499.1	29.1	4.9
AD-521466.1	29.2	6.9
AD-521140.1	29.5	9.4
AD-520892.1	30.1	11.7
AD-520976.1	30.5	13.4
AD-521457.1	30.6	11.5
AD-521127.1	30.7	7.8
AD-522145.1	31.2	10.2
AD-520984.1	31.2	9.1
AD-521997.1	32.2	15.4
AD-522174.1	32.8	9.7
AD-522545.1	33.6	7.1
AD-521979.1	33.8	6.7
AD-520891.1	33.9	14.8
AD-521833.1	34.3	9.6
AD-521461.1	35.0	22.6
AD-521386.1	35.0	15.0

AD-521123.1	35.1	23.9
AD-520899.1	35.9	14.2
AD-521089.1	36.9	26.5
AD-521407.1	37.3	15.3
AD-520898.1	38.6	18.6
AD-521378.1	38.7	18.6
AD-521500.1	38.8	17.7
AD-521798.1	39.4	14.3
AD-521902.1	39.6	10.0
AD-521896.1	39.8	18.4
AD-521989.1	39.8	15.6
AD-520896.1	40.7	13.9
AD-69024.2	41.1	8.3
AD-522146.1	41.6	9.7
AD-522432.1	41.9	18.9
AD-521020.1	42.2	11.6
AD-521668.1	42.3	8.2
AD-522097.1	43.0	12.5
AD-520999.1	43.9	18.0
AD-521832.1	44.4	10.4
AD-520894.1	44.7	10.5
AD-522144.1	45.0	22.2
AD-521408.1	45.2	24.2
AD-521128.1	45.7	9.9
AD-521980.1	45.8	5.0
AD-521406.1	46.5	17.9
AD-521131.1	46.8	21.4
AD-521909.1	47.1	28.4
AD-521954.1	47.4	7.8
AD-520872.1	47.7	19.8
AD-522142.1	48.2	22.3
AD-520994.1	48.8	6.2
AD-520886.1	50.0	20.3
AD-521987.1	50.5	17.9
AD-521988.1	50.8	6.9
AD-520785.1	51.2	11.0
AD-521919.1	51.4	18.6
AD-521121.1	51.7	15.0
AD-522202.1	53.1	17.3
AD-521130.1	54.5	17.6
AD-521908.1	55.1	33.8
AD-522173.1	55.1	15.5
AD-521785.1	56.1	13.2
AD-520890.1	56.3	19.6
AD-520978.1	56.5	26.3

AD-521744.1	57.5	6.9
AD-521021.1	58.1	4.4
AD-521197.1	59.2	18.9
AD-521379.1	59.7	42.4
AD-520925.1	60.6	12.4
AD-520888.1	60.8	24.3
AD-520975.1	66.0	16.0
AD-521666.1	66.3	30.6
AD-521922.1	66.5	19.7
AD-521986.1	67.3	21.9
AD-521915.1	67.6	21.7
AD-520897.1	69.4	28.1
AD-520889.1	73.3	27.6
AD-520885.1	74.2	37.3
AD-521469.1	75.6	16.4
AD-521674.1	78.4	26.1
AD-521983.1	80.9	26.8
AD-521385.1	82.8	18.7
AD-521937.1	84.8	29.7
AD-522141.1	87.4	22.7
AD-522143.1	90.7	25.1
AD-521669.1	103.8	12.8

**Таблица 16. Скрининг однократной дозы (нацеленной на PNPLA3) в клетках Cos-7 (вектор человеческой двойной люциферазы psiCHECK2). ST DEV- стандартное отклонение**

ID дуплекса	10 нМ		1 нМ		0.1 нМ	
	% остаточного сигнала	ST DEV	% остаточного сигнала	ST DEV	% остаточного сигнала	ST DEV
AD-520062.3	32.2	7.2	74.3	13.0	85.9	14.6
AD-520060.1	35.5	17.3	65.8	8.7	81.0	14.5
AD-520064.3	20.4	3.3	49.2	7.7	73.6	8.0
AD-518983.1	64.3	5.2	91.2	20.1	89.9	26.0
AD-520061.1	23.0	5.7	46.1	4.9	84.5	13.2
AD-520063.2	37.5	9.8	76.0	9.4	84.4	9.9
AD-519615.1	44.2	13.4	81.4	19.8	93.9	41.4
AD-519757.1	42.0	6.3	84.4	11.8	90.2	13.3
AD-519329.1	53.6	11.7	86.2	13.3	90.2	10.7
AD-519324.1	34.9	9.9	76.4	12.0	94.6	21.5
AD-518811.1	60.5	17.1	90.0	27.0	94.6	7.0
AD-520059.1	40.9	5.0	78.3	16.3	96.9	7.7
AD-519616.1	53.2	14.0	86.4	15.9	72.7	8.3
AD-518655.1	41.3	0.5	92.0	12.2	106.1	16.9
AD-519617.1	51.8	14.3	87.1	17.2	92.2	11.4
AD-519307.1	32.3	8.7	66.2	11.2	94.9	14.7

AD-520065.3	34.1	4.1	61.3	15.7	94.1	12.5
AD-519323.1	32.0	10.9	48.0	8.9	68.7	10.9
AD-519331.1	47.8	14.6	106.6	23.3	92.0	8.0
AD-518922.1	54.3	11.2	95.1	20.4	106.8	7.7
AD-519339.1	37.6	9.6	60.4	22.4	81.9	17.8
AD-67552.2	67.3	7.3	92.6	24.3	100.9	18.4
AD-519756.1	49.8	12.6	91.6	17.1	101.2	6.3
AD-519333.1	45.1	8.0	88.4	8.4	78.8	20.1
AD-519612.1	73.4	12.1	88.1	18.7	89.4	21.7
AD-519762.1	42.0	7.3	84.9	21.9	99.1	10.2
AD-75265.3	47.2	11.9	89.2	23.8	88.3	7.9
AD-67554.5	47.8	7.3	66.0	11.0	67.2	10.6
AD-518928.1	39.2	11.0	87.7	13.2	93.2	21.4
AD-519578.1	94.4	24.3	105.6	14.6	92.6	12.0
AD-75277.3	44.7	8.3	78.5	13.7	100.4	15.2
AD-519317.1	69.1	19.2	88.7	15.7	102.9	20.2
AD-67581.5	72.9	15.9	109.6	26.6	105.3	11.4
AD-519753.1	53.1	13.6	89.6	15.3	103.0	16.2
AD-518701.1	42.9	12.5	79.1	15.0	99.8	19.4
AD-519752.1	69.5	24.6	80.7	17.2	94.1	8.3
AD-519328.1	40.9	8.5	73.8	15.7	84.9	7.7
AD-519322.1	55.7	13.6	98.3	5.1	103.9	13.1
AD-519911.1	35.0	7.9	69.8	18.3	87.2	8.7
AD-519029.1	79.1	20.1	122.2	10.1	95.6	17.3
AD-519913.1	99.4	16.9	95.1	15.7	105.5	32.2
AD-518924.1	83.2	11.9	89.6	14.5	87.4	11.7
AD-519766.1	57.7	22.1	73.9	17.8	95.2	14.4
AD-519069.1	57.9	17.5	96.2	5.7	91.2	19.5
AD-519614.1	64.9	8.9	99.4	20.3	100.9	17.1
AD-519618.1	67.5	16.8	99.9	16.1	93.5	13.3
AD-519326.1	75.6	18.3	95.8	12.7	94.8	23.2
AD-518920.1	82.8	16.5	93.8	12.4	100.8	13.4
AD-519760.1	27.5	7.6	79.0	14.0	80.3	17.9
AD-518813.1	51.7	19.6	112.4	8.9	97.9	19.1
AD-519396.1	55.9	9.5	81.0	17.7	106.8	15.1
AD-519935.1	55.7	12.5	103.7	6.8	95.0	22.2
AD-519758.1	45.5	20.8	85.1	18.2	96.4	27.4
AD-518831.1	48.2	7.4	74.1	13.5	94.7	5.8
AD-518923.1	42.9	6.0	68.5	9.3	93.0	18.0
AD-519755.2	39.5	8.8	61.5	15.2	106.9	15.0
AD-520116.1	36.8	3.8	75.9	18.4	101.4	23.0
AD-519093.1	61.5	10.0	84.2	27.7	81.5	17.9
AD-67588.2	61.3	5.7	97.6	13.0	86.5	12.2
AD-519754.3	52.3	9.4	83.0	19.3	111.7	6.7
AD-519308.1	68.0	5.3	95.7	18.5	115.4	18.7

AD-519759.1	46.6	9.8	87.3	12.5	79.0	11.5
AD-519763.1	46.3	13.4	83.5	25.2	101.6	10.6
AD-519327.1	68.6	16.9	98.2	23.1	103.5	9.0
AD-519761.1	18.5	1.5	67.3	17.5	83.3	16.3
AD-518702.1	48.1	6.4	81.8	15.2	76.4	21.1
AD-519094.1	52.5	11.0	97.8	5.3	95.7	22.7
AD-518832.1	57.1	17.0	84.6	8.0	87.6	16.3
AD-519767.1	66.8	16.3	93.7	22.7	86.8	12.2
AD-518917.1	69.6	9.7	93.3	17.5	82.3	8.7
AD-518988.1	56.8	19.5	80.0	26.5	86.4	1.6
AD-519305.1	79.5	11.9	105.5	20.8	95.4	20.1
AD-519613.1	80.4	7.8	118.8	25.0	109.9	31.4
AD-519121.1	73.3	11.7	105.3	15.4	92.5	20.7
AD-519095.1	67.5	7.3	96.6	12.7	79.1	15.9
AD-518982.1	84.1	11.8	102.3	17.9	85.5	14.6
AD-519096.1	67.1	25.2	95.0	13.2	93.0	17.4
AD-518986.1	66.1	20.6	89.7	15.6	87.7	12.2
AD-518921.1	70.9	10.9	106.0	15.7	93.2	13.3
AD-518985.1	50.1	6.9	103.5	21.2	93.9	6.5
AD-518984.1	63.4	9.0	100.8	12.9	88.6	14.2
AD-519325.1	55.5	21.1	91.3	22.8	85.2	8.4
AD-518812.1	73.5	10.8	97.7	16.5	92.5	10.4
AD-518987.1	71.8	6.9	103.7	30.5	83.8	18.6
AD-518958.1	90.6	14.1	101.6	19.1	89.7	17.2
AD-67572.2	82.4	5.9	90.5	30.4	95.9	10.6
AD-518980.1	92.4	19.0	91.3	6.0	91.2	9.6
AD-519070.1	90.6	12.2	101.4	7.7	107.6	3.4
AD-518925.1	77.4	19.4	89.6	16.7	100.6	27.1
AD-518981.1	92.4	27.7	108.2	18.0	100.8	33.9

Таблица 17. Скрининг однократной дозы (нацеленной на PNPLA3) в клетках НерЗВ (ST DEV-стандартное отклонение)

ID дуплекса	10 нМ		1 нМ		0.1 нМ	
	% остаточного сигнала	ST DEV	% остаточного сигнала	ST DEV	% остаточного сигнала	ST DEV
AD-520062.3	11.5	7.8	18.8	6.0	63.8	7.2
AD-520060.1	28.7	5.6	67.5	17.5	111.0	20.0
AD-520064.3	30.1	2.8	56.9	4.9	94.7	10.2
AD-518983.1	31.3	1.8	84.7	24.7	141.6	11.1
AD-520061.1	32.3	6.2	56.8	5.2	101.0	25.0
AD-520063.2	36.5	4.6	61.7	5.2	96.5	11.3
AD-519615.1	38.6	4.7	36.2	9.9	91.7	15.5
AD-519757.1	38.8	11.4	54.6	9.7	102.5	18.5
AD-519329.1	39.7	11.3	71.7	3.6	87.5	13.4
AD-519324.1	42.2	6.4	72.6	10.5	83.0	10.2

AD-518811.1	43.4	7.6	66.6	17.1	108.4	17.2
AD-520059.1	43.6	7.1	62.7	7.0	106.7	19.5
AD-519616.1	44.9	6.7	71.7	9.8	91.4	12.4
AD-518655.1	45.0	6.6	59.5	15.3	99.2	6.1
AD-519617.1	48.2	2.5	60.5	11.5	74.6	5.8
AD-519307.1	51	7.438	42.9	9.151	61.2	4.0
AD-520065.3	51.0	8.8	63.3	7.1	101.9	22.0
AD-519323.1	51.3	6.0	63.3	8.5	118.9	13.4
AD-519331.1	51.3	4.8	82.6	19.5	97.3	20.7
AD-518922.1	52.0	8.7	52.9	16.8	89.6	28.3
AD-519339.1	52.1	5.5	61.7	9.2	99.9	21.0
AD-67552.2	53.3	11.6	90.5	17.4	96.3	18.7
AD-519756.1	53.5	8.4	55.4	1.9	91.2	7.1
AD-519333.1	53.8	14.5	56.0	6.7	86.1	18.9
AD-519612.1	54.1	9.3	77.7	6.6	119.4	10.3
AD-519762.1	55.1	17.0	58.5	7.2	81.7	9.4
AD-75265.3	55.2	6.6	74.8	9.0	118.0	11.8
AD-67554.5	55.7	5.4	73.8	15.8	82.6	9.0
AD-518928.1	56.0	1.7	55.7	9.6	82.7	15.6
AD-519578.1	56.7	8.7	83.8	13.0	83.0	15.2
AD-75277.3	56.8	6.7	65.3	12.8	78.6	13.0
AD-519317.1	57.3	3.3	66.5	4.9	77.3	5.7
AD-67581.5	57.8	6.6	74.1	7.4	84.7	5.9
AD-519753.1	59.7	14.9	71.5	9.4	70.5	14.5
AD-518701.1	59.9	8.4	60.6	8.0	78.9	9.4
AD-519752.1	61.8	5.8	69.1	7.6	88.4	10.2
AD-519328.1	61.9	10.8	54.9	5.2	101.1	18.4
AD-519322.1	61.9	6.3	87.3	13.4	89.7	8.9
AD-519911.1	62.0	7.5	60.5	5.4	85.0	12.5
AD-519029.1	62.7	9.1	73.1	13.7	99.6	23.7
AD-519913.1	62.8	8.6	82.9	6.8	115.9	12.9
AD-518924.1	63.1	11.6	82.5	10.4	98.7	19.6
AD-519766.1	63.9	10.0	91.6	24.3	117.8	22.0
AD-519069.1	64.0	4.0	83.2	15.3	104.9	13.2
AD-519614.1	64.3	5.4	36.1	5.3	102.2	12.9
AD-519618.1	64.5	8.4	66.4	4.1	98.7	15.3
AD-519326.1	64.9	24.3	91.7	19.4	113.9	29.3
AD-518920.1	65.2	12.2	72.0	2.5	108.1	18.7
AD-519760.1	66.7	10.6	55.6	14.0	101.3	28.9
AD-518813.1	66.7	3.9	69.7	13.9	95.0	13.2
AD-519396.1	67.6	11.9	72.2	15.4	96.3	20.3
AD-519935.1	67.8	11.0	54.2	16.1	94.7	19.6
AD-519758.1	67.8	8.7	82.6	6.1	100.4	12.5
AD-518831.1	68.3	7.5	61.1	7.6	117.6	18.9
AD-518923.1	68.5	18.3	49.8	8.3	65.8	5.4

AD-519755.2	69.6	9.3	66.7	13.7	80.9	18.8
AD-520116.1	69.8	8.6	72.4	10.5	93.5	10.7
AD-519093.1	70.0	3.2	72.8	15.5	101.0	20.0
AD-67588.2	70.3	16.6	77.1	16.7	81.0	15.7
AD-519754.3	70.3	3.1	81.2	10.4	84.1	5.0
AD-519308.1	70.6	12.8	70.4	9.9	89.1	8.7
AD-519759.1	72.7	12.9	81.1	4.6	90.0	9.8
AD-519763.1	73.4	15.7	90.9	13.9	109.1	30.5
AD-519327.1	73.5	8.9	97.8	14.4	117.2	17.9
AD-519761.1	73.7	7.4	64.9	7.0	119.2	16.2
AD-518702.1	75.3	17.3	59.4	6.9	81.0	3.4
AD-519094.1	76.3	8.0	88.9	15.9	91.4	4.9
AD-518832.1	80.2	5.7	97.1	11.2	104.6	20.7
AD-519767.1	82.0	10.1	92.9	14.7	106.7	17.6
AD-518917.1	82.5	8.7	83.9	11.7	115.4	35.5
AD-518988.1	82.7	7.5	98.1	25.0	99.7	24.8
AD-519305.1	83.4	11.1	85.6	9.8	85.2	17.2
AD-519613.1	84.6	10.0	101.9	14.8	91.5	6.8
AD-519121.1	84.7	17.85	76.2	12.1	93.5	11.1
AD-519095.1	86.7	51.2	93.7	13.9	102.9	8.5
AD-518982.1	88.3	8.4	111.5	20.0	136.3	25.7
AD-519096.1	89.1	20.1	94.4	8.7	89.4	13.4
AD-518986.1	89.8	7.6	105.3	10.8	108.6	20.8
AD-518921.1	94.8	6.1	102.5	17.6	117.3	20.5
AD-518985.1	95.3	18.0	91.6	19.9	133.4	23.9
AD-518984.1	95.7	10.9	108.4	17.5	98.6	31.2
AD-519325.1	95.7	13.3	103.4	20.2	138.5	12.3
AD-518812.1	96.3	9.5	90.9	19.8	129.1	18.0
AD-518987.1	99.8	15.1	94.2	19.4	87.6	22.5
AD-518958.1	102.9	15.9	107.4	17.9	93.7	7.0
AD-67572.2	109.7	17.8	112.8	14.9	133.8	13.3
AD-518980.1	111.5	3.6	114.5	17.5	106.7	18.4
AD-519070.1	114.9	19.2	104.6	12.7	112.8	11.8
AD-518925.1	117.1	9.9	118.4	16.0	80.3	5.4
AD-518981.1	127.7	11.0	109.6	23.6	96.1	11.5

**Таблица 18. Скрининг однократной дозы (нацеленной на PNPLA3) в клетках Cos-7 (вектор человеческой двойной люциферазы psiCHECK2). ST DEV- стандартное отклонение**

ID дуплекса	50 нМ		10 нМ		1 нМ		0.1 нМ	
	% остаточного сигнала	ST DEV	% остаточного сигнала	ST DEV	% остаточного сигнала	ST DEV	% остаточного сигнала	ST DEV
AD-	19.5	7.9	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A

521086.1									
AD-805632.1	N/A	N/A	78.2	9.4	86.1	14.1	82.9	13.9	
AD-805644.1	N/A	N/A	94.2	12.3	98.0	15.8	93.5	24.2	
AD-521465.1	19.2	10.1	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	
AD-805631.1	N/A	N/A	32.8	8.2	69.8	16.2	103.4	3.9	
AD-805643.1	N/A	N/A	67.1	13.2	95.1	18.0	91.9	15.7	
AD-520902.1	24.1	9.4	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	
AD-805634.1	N/A	N/A	61.6	5.2	91.7	13.2	101.0	13.3	
AD-805646.1	N/A	N/A	76.3	15.6	77.5	18.6	78.0	12.5	
AD-522140.1	24.3	4.9	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	
AD-805635.1	N/A	N/A	31.1	11.5	56.5	7.6	74.8	12.2	
AD-805647.1	N/A	N/A	77.9	6.4	88.6	15.9	98.2	15.2	
AD-520903.1	17.6	14.3	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	
AD-805628.1	N/A	N/A	90.5	13.5	89.6	22.6	95.7	8.1	
AD-805640.1	N/A	N/A	98.8	19.0	102.0	8.7	92.8	8.1	
AD-520973.1	13.0	9.6	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	
AD-805625.1	N/A	N/A	98.8	16.3	99.8	13.9	90.4	6.5	
AD-805637.1	N/A	N/A	109.0	27.2	90.5	7.5	104.5	21.2	
AD-521129.1	18.9	5.7	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	
AD-805630.1	N/A	N/A	67.5	18.8	121.7	33.2	104.0	19.0	
AD-805642.1	N/A	N/A	66.1	8.1	94.9	21.9	92.2	19.3	
AD-521124.1	15.6	12.7	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	
AD-805626.1	N/A	N/A	50.3	18.2	88.4	10.9	96.6	15.9	
AD-805638.1	N/A	N/A	84.8	16.6	86.4	7.5	93.1	5.4	
AD-521420.1	12.6	5.2	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	
AD-	N/A	N/A	23.0	8.7	32.9	3.5	86.6	17.4	



805624.1									
AD-805636.1	N/A	N/A	58.4	11.6	91.3	18.9	95.1	17.6	
AD-521840.1	17.8	3.3	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
AD-805629.1	N/A	N/A	48.7	16.6	78.6	15.6	121.6	21.4	
AD-805641.1	N/A	N/A	89.0	12.5	97.2	22.4	96.1	14.5	
AD-521409.1	20.5	12.1	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
AD-805633.1	N/A	N/A	83.0	15.2	98.6	20.5	91.8	13.6	
AD-805645.1	N/A	N/A	53.2	7.4	80.7	6.3	104.6	15.8	
AD-521486.1	17.6	4.6	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
AD-805627.1	N/A	N/A	61.1	7.9	100.3	17.8	83.7	17.9	
AD-805639.1	N/A	N/A	89.7	8.6	101.3	18.2	85.1	10.0	

Таблица 19. Скрининг однократной дозы (нацеленной на PNPLA3) в клетках.

**ST DEV- стандартное отклонение**

% остаточного сигнала	10 нМ		1 нМ		0.1 нМ	
	ST DEV	% остаточного сигнала	ST DEV	% остаточного сигнала	ST DEV	% остаточного сигнала
AD-521086.1	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
AD-805632.1	58.2	6.1	65.1	10.6	91.6	17.9
AD-805644.1	90.5	19.6	101.7	9.9	91.9	14.7
AD-521465.1	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
AD-805631.1	54.6	4.6	81.2	9.9	102.5	13.4
AD-805643.1	64.0	11.6	80.5	23.2	92.2	8.3
AD-520902.1	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
AD-805634.1	102.2	18.8	88.4	4.6	113.2	20.7
AD-805646.1	95.8	12.0	95.3	5.6	81.5	8.5
AD-522140.1	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
AD-805635.1	90.2	10.5	52.8	6.7	84.9	14.4
AD-805647.1	96.5	24.1	73.6	4.3	83.4	11.4
AD-520903.1	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
AD-805628.1	105.2	25.9	106.7	6.8	101.7	16.1
AD-805640.1	103.1	6.2	97.8	13.0	91.9	9.5
AD-520973.1	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
AD-805625.1	109.4	11.7	112.1	21.2	109.8	21.6
AD-805637.1	123.9	17.4	112.6	13.6	108.7	15.7
AD-521129.1	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A

% остаточного сигнала	10 нМ		1 нМ		0.1 нМ	
	ST DEV	% остаточного сигнала	ST DEV	% остаточного сигнала	ST DEV	% остаточного сигнала
AD-805630.1	105.9	6.0	109.6	13.9	121.5	16.2
AD-805642.1	109.0	19.2	91.3	11.0	110.5	13.3
AD-521124.1	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
AD-805626.1	74.6	8.2	87.8	10.7	112.2	10.1
AD-805638.1	98.0	9.2	97.9	6.4	104.3	13.6
AD-521420.1	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
AD-805624.1	33.7	5.4	42.4	9.2	53.2	6.9
AD-805636.1	82.1	7.5	89.7	8.8	95.7	11.6
AD-521840.1	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
AD-805629.1	60.7	5.7	82.3	17.7	93.5	5.7
AD-805641.1	122.2	21.4	115.9	21.0	111.4	9.3
AD-521409.1	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
AD-805633.1	116.6	19.7	107.0	24.0	127.8	17.3
AD-805645.1	96.6	9.7	89.0	11.0	90.9	13.2
AD-521486.1	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
AD-805627.1	56.3	6.9	78.2	14.1	115.9	10.4
AD-805639.1	117.8	13.8	112.2	9.7	94.7	9.5

### Пример 3. Скрининг *in vivo* дуплексов дсРНК у мышей

Представляющие интерес дуплексы, идентифицированные в ходе вышеуказанных исследований *in vitro*, оценивали *in vivo*. В частности, за день до введения дозы (pre-dose day) 14 мышей дикого типа (C57BL/6) трансдуцировали  $2 \times 10^{11}$  вирусных частиц вектора аденоассоциированного вируса 8 (AAV8), кодирующего PNPLA3 человека, путем внутривенного введения  $2 \times 10^{11}$ . В частности, мышам вводили AAV8, кодирующий открытую рамку считывания, и 3'-UTR мРНК PNPLA3 человека, обозначенную как NM\_025225.2 (AAV8.-TBG-PI-PNPLA3).

В день 0 группам из трех мышей подкожно вводили однократную дозу 3 мг/кг или однократную дозу 10 мг/кг представляющих интерес агентов или PBS-контроль. В Таблице 20 приведены группы обработки, а в Таблице 21 представлены модифицированные нуклеотидные последовательности смысловой и антисмысловой цепей представляющих интерес дуплексов. На 7-й или 14-й день после введения дозы животных умерщвляли, образцы печени собирали и быстро замораживали в жидком азоте. Тканевую мРНК экстрагировали и анализировали методом RT-QPCR.

Уровни мРНК PNPLA3 человека сравнивали с таковыми гена домашнего хозяйства GAPDH. Затем значения нормализовали к среднему значению для контрольной группы с носителем PBS. Данные были выражены в процентах от исходного значения и представлены как среднее значение плюс стандартное отклонение. Результаты, перечисленные в Таблице 22 и показанные на Фигуре 1, демонстрируют, что протестированные репрезентативные дуплексные агенты эффективно снижают уровень

матричной РНК PNPLA3 человека *in vivo*.

Таблица 20.

Группа № Животное № Лечебная доза Момент времени  
(День)

Таблица 20.

Группа #	Животное #	Обработка	Доза	Точка времени (День)
1	1	PBS	нет	D7
	2			
	3			
2	4	Без обработки	нет	
	5			
	6			
3	7	AD-517197.2	3мг/кг	
	8			
	9			
4	10	AD-517258.2		
	11			
	12			
5	13	AD-517197.2	10мг/кг	
	14			
	15			
6	16	AD-517258.2		
	17			
	18			
7	19	PBS	нет	
	20			
	21			
8	22	Без обработки	нет	
	23			
	24			
9	25	AD-517197.2	10мг/кг	
	26			
	27			
10	28	AD-517258.2		
	29			
	30			
11	31	AD-517197.2	10мг/кг	
	32			
	33			
12	34	AD-517258.2		
	35			
	36			
D14				

Таблица 21.

ID дуплекса	ID	цень	Нуклеотидная	SEQ ID
-------------	----	------	--------------	--------

	олигонуклеотид		последовательность от 5' до 3'	NO:
AD-517197.2	A-150304.3	смысловая	csasugagCfaAfGfAfuugcaacuu L96	1746
	A-999710.1	антисмысл	asAfsguug(Cgn)aaaucuUfgCfuc ugsusa	1747
AD-517258.2	A-999829.1	смысловая	ascsuugcUfaCfCfcfauuaggauau L96	1748
	A-999830.1	антисмысл	asUfsaucc(Tgn)aaugggUfaGfcaa gususg	1749

Таблица 22.

Дуплекс	% остаточного сигнала, нормализованного к PBS	SD, стандартное отклонение
PBS День 7	101.19	11.20
Без обработки День 7	89.04	18.18
AD-517197.2 3 мг/кг	84.36	5.65
AD-517258 3 мг/кг	76.75	12.42
AD-517197.2 10 мг/кг	56.72	6.90
AD-517258 10 мг/кг	77.23	10.55
PBS День 14	103.60	19.54
Без обработки День 14	95.55	14.11
AD-517197.2 3 мг/кг	89.05	3.84
AD-517258 3 мг/кг	136.33	11.85
AD-517197.2 10 мг/кг	78.79	9.48
AD-517258 10 мг/кг	61.83	6.29

Дополнительные дуплексы, представляющие интерес, идентифицированные в вышеприведенных исследованиях *in vitro*, также оценивали *in vivo*. В частности, за день до введения дозы 14 мышей дикого типа (C57BL/6) были трансдуцированы путем внутривенного введения  $2 \times 10^{11}$  вирусных частиц вектора аденоассоциированного вируса 8 (AAV8), кодирующего PNPLA3 человека. В частности, мышам вводили AAV8, кодирующий открытую рамку считывания, и 3'-UTR PNPLA3 человека, указанный в NM\_025225.2 (AAV8.-TBG-PI-PNPLA3).

В день 0, время 0, группам из трех мышей подкожно вводили однократную дозу 3 мг/кг интересующего агента (за исключением AD-517258.2), за которой приблизительно через 1 час следовала однократная доза 7 мг/кг того же агента, который вводился в точке времени 0, или PBS-контроль, вводимый в день 0, время 0. Мышам, которым вводили AD-517258.2, вводили только одну дозу такового 3 мг/кг в день 0, время 0. В Таблице 20 представлены группы лечения, а в Таблице 21 предоставлены модифицированные нуклеотидные последовательности смысловой и антисмысловой цепей представляющих интерес дуплексов. На 7-й день после введения дозы животных умерщвляли, образцы печени собирали и быстро замораживали в жидком азоте. Тканевую мРНК экстрагировали и анализировали методом RT-QPCR.

Уровни мРНК PNPLA3 человека сравнивали с уровнем мРНК гена домашнего

хозяйства GAPDH. Затем значения нормализовали к среднему значению для контрольной группы с носителем PBS. Данные были выражены в процентах от исходного уровня значения и представлены как среднее значение плюс стандартное отклонение. Результаты, перечисленные в Таблице 25 и показанные на Фигуре 2, демонстрируют, что протестированные репрезентативные дуплексные агенты эффективно снижают уровень матричной РНК PNPLA3 человека *in vivo*.

Таблица 23.

Группа #	Животное #	Обработка	Доза	
1	1	PBS	нет	
	2			
	3			
2	4	Без обработки	нет	
	5			
	6			
3	7	AD-517197.2	10 мг/кг (3 мг/кг с последующей дозой 7 мг/кг ~1 час позже)	
	8			
	9			
4	10	AD-516748.2		
	11			
	12			
5	13	AD-516851.2		
	14			
	15			
6	16	AD-517258.2		3 мг/кг
	17			
	18			
7	19	AD-519351.2		
	20			
	21			
8	22	AD-519754.2		
	23			
	24			
9	25	AD-519828.2		
	26			
	27			
10	28	AD-520018.2		
	29			
	30			
11	31	AD-520035.2		
	32			
	33			
12	34	AD-520062.2		
	35			

	36		
13	37	AD-520064.2	
	38		
	39		
14	40	AD-520065.2	
	41		
	42		
15	43	AD-520067.2	
	44		
	45		
16	46	AD-75289.2	
	47		
	48		
17	49	AD-520069.2	
	50		
	51		
18	52	AD-520099.2	
	53		
	54		
19	55	AD-67575.7	
	56		
	57		
20	58	AD-520101.2	
	59		
	60		
21	61	AD-67605.7	
	62		
	63		

Таблица 24.

ID дуплекса	ID олигонуклеотида	Цепь	SEQ ID NO:	Нуклеотидная последовательность от 5' до 3'
AD-517197.2	A-150304.3	смысловая	1750	csasugagCfaAfGfAfuuuгсаасии L96
	A-999710.1	antis	1751	asAfsguug(Cgn)aaaucuUfgCfuc augsusa
AD-516748.2	A-998818.1	смысловая	1752	asasagacGfaAfGfUfcguggaugcu L96
	A-998819.1	antis	1753	asGfссаuc(Cgn)acgacuUfcGfucu uugsg
AD-516851.2	A-999023.1	смысловая	1754	usgsaugcCfaAfAfAfaaccaucau L96
	A-999024.1	antis	1755	asUfsgaug(Ggn)uuguuuUfgGfca ucasasu
AD-517258.2	A-999829.1	смысловая	1756	ассуугсUfaCfCfCfauuaggauau L96

	A-999830.1	antis	1757	asUfsaucc(Tgn)aaugggUfaGfcaa gususg
AD- 519351.2	A-999855.1	СМЫСЛОВАЯ	1758	asgsgauaAfuGfUfCfuuauuuuu L96
	A-1003070.1	antis	1759	asAfsuuaCfaUfAfagacAfuUfauc cusasa
AD- 519754.2	A-1000664.1	СМЫСЛОВАЯ	1760	gsasgcugAfgUfUfGfguuuuuuuuuu L96
	A-1003473.1	antis	1761	asUfscauAfaAfAfccaaCfuCfagc ucsasg
AD- 519828.2	A-1000812.1	СМЫСЛОВАЯ	1762	csasucagCfaUfGfCfuuuuuuuuuu L96
	A-1003547.1	antis	1763	asUfsgaaUfuAfAfcgcaUfgCfuga ugsusa
AD- 520018.2	A-1001193.1	СМЫСЛОВАЯ	1764	gsasuaacCfuUfGfAfcuacuaaaau L96
	A-1003737.1	antis	1765	asUfsuuuAfgUfAfgucaAfgGfuu aucsasu
AD- 520035.2	A-1001228.1	СМЫСЛОВАЯ	1766	ggsuaacAfaGfAfUfgauuuuuuuuu L96
	A-1003754.1	antis	1767	asUfsagaUfuAfUfcaucUfuGfuua ccscsc
AD- 520062.2	A-1001282.1	СМЫСЛОВАЯ	1768	ascscuuuUfuCfAfcfuaacuaaaau L96
	A-1003781.1	АНТИСМЫСЛ	1769	asUfsuuaGfuUfAfggugAfaAfaa ggusgsu
AD- 520064.2	A-1001286.1	СМЫСЛОВАЯ	1770	csuuuuuuCfaCfCfUfaacuaaaau L96
	A-1003783.1	АНТИСМЫСЛ	1771	asAfsuuuUfaGfUfuaggUfgAfaaa agsgsu
AD- 520065.2	A-1001288.1	СМЫСЛОВАЯ	1772	usuuuuucAfcCfUfAfacuaaaauuu L96
	A-1003784.1	АНТИСМЫСЛ	1773	asUfsauuUfuAfGfuuagGfuGfaaa aasgsg
AD- 520067.2	A-1001292.1	СМЫСЛОВАЯ	1774	ususucacCfuAfAfcfuaaaauuuuu L96
	A-1003786.1	АНТИСМЫСЛ	1775	asAfsuuaUfuUfUfaguuAfgGfug aaasasa
AD- 75289.2	A-150350.2	СМЫСЛОВАЯ	1776	ususcaccUfaAfCfUfaaaauuuuuuu L96
	A-150351.2	АНТИСМЫСЛ	1777	asCfsauuAfuUfUfuaguUfaGfgu gaasasa
AD- 520069.2	A-1001296.1	СМЫСЛОВАЯ	1778	csasccuaAfcUfAfAfaauuuuuuuuu L96
	A-1003788.1	АНТИСМЫСЛ	1779	asAfsacaUfuAfUfuuuuGfuUfagg ugsasa
AD- 520099.2	A-1001362.1	СМЫСЛОВАЯ	1780	usgsuuacCfuGfUfUfgaauuuuuuuuu L96
	A-1003818.1	АНТИСМЫСЛ	1781	asAfscaaAfaUfUfcaacAfgGfuuaa casasc
AD-	A-135333.4	СМЫСЛОВАЯ	1782	ususaccuGfuUfGfAfauuuuuuuuuu

67575.7				L96
	A-135334.4	антисмысл	1783	asAfsuacAfaAfafuucaAfcAfggu aascsa
AD-520101.2	A-1001366.1	смысловая	1784	usascugUfuGfAfAfuuuuuguauuu L96
	A-1003820.1	антисмысл	1785	asAfsauaCfaAfAfaaucAfaCfagg uasasc
AD-67605.7	A-135397.4	смысловая	1786	ascscuguUfgAfAfUfuuuuguauuu L96
	A-135398.4	антисмысл	1787	asUfsaauAfcAfAfaauuCfaAfcag gusasa

Таблица 25.

Дуплекс	% остаточного сигнала	Стандартное отклонение SD
PBS	103.93	20.88
Без обработки	98.96	8.18
AD-517197.2	72.73	5.25
AD-516748.2	113.80	50.63
AD-516851.2	90.77	10.59
<b>AD-517258.2</b>	<b>106.22</b>	<b>12.98</b>
AD-519351.2	51.51	6.40
AD-519754.2	52.67	3.53
AD-519828.2	80.26	9.81
AD-520018.2	35.16	14.27
AD-520035.2	84.43	13.85
AD-520062.2	55.69	6.76
AD-520064.2	101.98	17.12
AD-520065.2	83.81	26.80
AD-520067.2	77.07	13.29
AD-75289.2	85.71	16.74
AD-520069.2	88.70	10.81
AD-520099.2	104.33	28.27
AD-67575.7	97.80	18.17
AD-520101.2	97.77	6.29
AD-67605.7	107.86	21.32

Дополнительные представляющие интерес дуплексы, идентифицированные в вышеприведенных исследованиях *in vitro*, также оценивались *in vivo* методом титрования AAV. В частности, за день до введения дозы -14 мышей дикого типа (C57BL/6) трансдуцировали путем внутривенного введения  $2 \times 10^{11}$ ,  $2 \times 10^{10}$ ,  $2 \times 10^9$ , или  $2 \times 10^8$  вирусных частиц аденоассоциированного вирусного 8 (AAV8) вектора, кодирующий PNPLA3 человека. В частности, мышам вводили AAV8, кодирующий часть мРНК PNPLA3 человека, кодирующую открытую рамку считывания, и 3'-UTR мРНК PNPLA3 человека, обозначенную как NM\_025225.2 (AAV8.-TBG-PI-PNPLA3).

В день 0, время 0, группам из трех мышей подкожно вводили однократную дозу 10 мг/кг интересующего агента или контрольного PBS. В Таблице 26 приведены группы



лечения, а в таблице 27 приведены модифицированные нуклеотидные последовательности смысловой и антисмысловой цепей представляющих интерес дуплексов. На 7-й день после введения дозы животных умерщвляли, образцы печени собирали и быстро замораживали в жидком азоте. Тканевую мРНК экстрагировали и анализировали методом RT-QPCR.

Уровни мРНК PNPLA3 человека сравнивали с таковыми гена домашнего хозяйства GAPDH. Затем значения нормализовали к среднему значению для контрольной группы с носителем PBS. Данные были выражены в процентах от исходного значения и представлены как среднее значение плюс стандартное отклонение. Результаты, перечисленные в Таблице 28 и показанные на Фигуре 3, демонстрируют, что протестированные репрезентативные дуплексные агенты эффективно снижают уровень матричной РНК PNPLA3 человека *in vivo*.

**Таблица 26.**

Группа #	Животное #	Обработка	Доза	AAV титр (вирусных частиц/мышь)
1	1	PBS	нет	2.00E+11
	2			
	3			
2	4	AD-519351.4	10 мг/кг	
	5			
	6			
3	7	AD-519754.5		
	8			
	9			
4	10	AD-520062.5		
	11			
	12			
5	13	AD-520018.6		
	14			
	15			
6	16	PBS		нет
	17			
	18			
7	19	AD-519351.4	10 мг/кг	
	20			
	21			
8	22	AD-519754.5		
	23			
	24			
9	25	AD-520062.5		
	26			
	27			

10	28	AD-520018.6		
	29			
	30			
11	31	PBS	нет	
	32			
	33			
12	34	AD-519351.4		
	35			
	36			
13	37	AD-519754.5		2.00E+09
	38			
	39			
14	40	AD-520062.5	10 мг/кг	
	41			
	42			
15	43	AD-520018.6		
	44			
	45			
16	46	PBS	нет	
	47			
	48			
17	49	AD-519351.4		
	50			
	51			
18	52	AD-519754.5		2.00E+08
	53			
	54			
19	55	AD-520062.5	10 мг/кг	
	56			
	57			
20	58	AD-520018.6		
	59			
	60			

Таблица 27.

ID дуплекса	ID олигонуклеотида	Цепь	Нуклеотидная последовательность от 5' до 3'	SEQ ID NO:
AD-519351.4	A-999855.2	смысловая	asgsgauaAfuGfUfCfuuauguaau uL96	1788
	A-1003070.2	антисмысл	asAfsuuaCfaUfAfacAfuUfau ccusasa	1789
AD-519754.5	A-1000664.3	смысловая	gsasgcugAfgUfUfGfguuuuaua uL96	1790
	A-1003473.3	антисмысл	asUfscAuAfaAfafccaaCfuCfagc ucsasg	1791

AD-520062.5	A-1001282.3	смысловая	ascscuuuUfuCfAfCfcuaacuaaaau L96	1792
	A-1003781.3	антисмысл	asUfsuuuGfuUfAfggugAfaAfaa ggusgsu	1793
AD-520018.6	A-1001193.3	смысловая	gsasuaacCfuUfGfAfcuaacuaaaau L96	1794
	A-1003737.3	антисмысл	asUfsuuuAfgUfAfgucaAfgGfuu aucsasu	1795

Таблица 28.

Титр дозы AAV	Экспериментальная обработка	Средняя кратность увеличения	Стандартное отклонение SD
2E11	PBS	1.02	0.25
	AD-520018	0.34	0.01
	AD-519351	0.63	0.09
	AD-519754	0.58	0.09
	AD-520062	0.51	0.17
2E10	PBS	1.09	0.49
	AD-520018	0.37	0.07
	AD-519351	0.64	0.15
	AD-519754	0.39	0.17
	AD-520062	0.37	0.18
2E9	PBS	1.02	0.23
	AD-520018	0.19	0.13
	AD-519351	0.30	0.16
	AD-519754	0.38	0.02
	AD-520062	0.18	0.16
2E8	PBS	1.05	0.45
	AD-520018	0.59	0.50
	AD-519351	0.74	0.35
	AD-519754	1.23	0.52
	AD-520062	0.87	0.10

Дополнительные представляющие интерес дуплексы, идентифицированные в вышеприведенных исследованиях *in vitro*, также оценивали *in vivo*. В частности, за день до введения дозы 14 мышей дикого типа (C57BL/6) подвергли трансдукции путем внутривенного введения  $2 \times 10^{11}$  вирусных частиц (что соответствует  $2.4 \times 10^{13}$  копий генома/мл) аденоассоциированного вирусного вектора (AAV8), кодирующего PNPLA3 человека. В частности, мышам вводили AAV8, кодирующий часть мРНК PNPLA3 человека, кодирующую открытую рамку считывания, и 3'-UTR мРНК PNPLA3 человека, обозначенную как NM\_025225.2 (AAV8.-TBG-PI-PNPLA3).

Для каждого интересующего агента в день 0 одной группе из трех мышей подкожно вводили однократную дозу 10 мг/кг интересующего агента или PBS-контроль. Другой группе из трех мышей для каждого интересующего агента подкожно вводили однократную дозу 10 мг/кг интересующего агента или контроль PBS в День 0 и

последующую дозу 10 мг/кг агента в День 1. Для каждого интересующего агента третьей группе из трех мышей подкожно вводили разовую дозу 10 мг/кг интересующего агента или контрольного PBS в День 0, последующую дозу 10 мг/кг агента в День 1 и еще 10 мг/кг дозу агента на 2-й день. В Таблице 29 представлены группы лечения, а в Таблице 30 представлены модифицированные нуклеотидные последовательности смысловой и антисмысловой цепей представляющих интерес дуплексов. Через семь дней после введения последней дозы животных умерщвляли, образцы печени собирали и быстро замораживали в жидком азоте. Тканевую мРНК экстрагировали и анализировали методом RT-QPCR.

Уровни мРНК PNPLA3 человека сравнивали с уровнями гена домашнего хозяйства GAPDH. Затем значения нормализовали к среднему значению для контрольной группы с носителем PBS. Данные были выражены в процентах от исходного значения и представлены как среднее значение плюс стандартное отклонение. Результаты, перечисленные в Таблице 31 и показанные на Фигуре 4, демонстрируют, что протестированные репрезентативные дуплексные агенты эффективно снижают уровень матричной РНК PNPLA3 человека *in vivo*.

Таблица 29.

Группа #	Животное #	Обработка	Доза	Конец исследования	
1	1	PBS	n/a	D7	
	2				
	3				
2	4	Без обработки	n/a		
	5				
	6				
3	7	AD-520018.2	10 мг/кг D0		
	8				
	9				
4	10	AD-519351.2			
	11				
	12				
5	13	AD-519754.2			
	14				
	15				
6	16	AD-520062.2			
	17				
	18				
7	19	PBS	10 мг/кг D0, 10 мг/кг D1 (20 мг/кг всего)		D8
	20				
	21				
8	22	AD-520018.2			
	23				
	24				

9	25	AD-519351.2	10 мг/кг D0, 10 мг/кг D1, 10 мг/кг D2 (30 мг/кг всего)	D9
	26			
	27			
10	28	AD-519754.2		
	29			
	30			
11	31	AD-520062.2		
	32			
	33			
12	34	PBS		
	35			
	36			
13	37	AD-520018.2		
	38			
	39			
14	40	AD-519351.2		
	41			
	42			
15	43	AD-519754.2		
	44			
	45			
16	46	AD-520062.2		
	47			
	48			

Таблица 30.

ID дуплекса	ID олигонуклеотида	Цепь	Нуклеотидная последовательность от 5' до 3'	SEQ ID NO:
AD-520018.2	A-1001193.1	смысловая	gsasuaacCfuUfGfAfcuасuaааааL96	1796
	A-1003737.1	антисмысл	asUfsuuuAfgUfAfgucaAfgGfuuaucsasu	1797
AD-519351.2	A-999855.1	смысловая	asgsgauaAfuGfUfCfuuauguaаааL96	1798
	A-1003070.1	антисмысл	asAfsuuaCfaUfAfacacAfuUfauccusasa	1799
AD-519754.2	A-1000664.1	смысловая	gsasgcugAfgUfUfGfguuuuааааL96	1800
	A-1003473.1	антисмысл	asUfscauAfaAfafcaaCfuCfagcucsasg	1801
AD-520062.2	A-1001282.1	смысловая	ascscuuuUfuCfAfCfcuaacuaаааL96	1802
	A-1003781.1	антисмысл	asUfsuuaGfuUfAfggugAfaAfaag gusgsu	1803

Таблица 31.

Дуплекс	% остаточного сигнала	Стандартное отклонение SD
---------	-----------------------	---------------------------

Дуплекс	% остаточного сигнала	Стандартное отклонение SD
PBS 10 мг/кг D7	101.3	18.9
Без обработки 10 мг/кг D7	120.9	24.9
AD-520018.2 10 мг/кг D7	41.7	12.3
AD-519351.2 10 мг/кг D7	35.9	9.4
AD-519754.2 10 мг/кг D7	58.6	6.8
AD-520062.2 10 мг/кг D7	45.4	6.4
PBS 20 мг/кг D8	100.6	12.4
AD-520018.2 20 мг/кг D8	31.8	5.6
AD-519351.2 20 мг/кг D8	27.9	1
AD-519754.2 20 мг/кг D8	50.5	4.3
AD-520062.2 20 мг/кг D8	49.9	4.3
PBS 30 мг/кг D9	101.8	23.3
AD-520018.2 30 мг/кг D9	45.8	18.5
AD-519351.2 30 мг/кг D9	22.4	10.4
AD-519754.2 30 мг/кг D9	41.3	9.5
AD-520062.2 30 мг/кг D9	61.4	12.3

#### Пример 4. Дизайн, синтез и скрининг *in vitro* дополнительных дуплексов дсРНК

Были сконструированы, синтезированы и получены дополнительные siРНК при использовании способов, известных в данной области техники и описанных выше в Примере 1.

Подробные списки дополнительных немодифицированных нуклеотидных последовательностей смысловой и антисмысловой цепей PNPLA3 показаны в Таблице 32. Подробные списки модифицированных нуклеотидных последовательностей смысловой и антисмысловой цепей PNPLA3 показаны в Таблице 33.

Для трансфекции клетки (ATCC, Manassas, VA) выращивали почти до слияния при 37°C в атмосфере с 5% CO<sub>2</sub> в минимальной основной среде Игла (Eagle's Minimum Essential Medium (Gibco) с добавлением 10% FBS (ATCC) перед высвобождением с планшета путем трипсинизации. Трансфекцию осуществляли путем добавления 7,5 мкл Opti-MEM плюс 0,1 мкл Lipofectamine РНКиМах на лунку (Invitrogen, Carlsbad CA. cat # 13778-150) к 2,5 мкл каждого дуплекса siРНК в отдельную лунку в 384-луночного планшета. Затем смесь инкубировали при комнатной температуре в течение 15 минут. Затем к смеси siРНК добавляли 40 мкл полной питательной среды без антибиотика, содержащей 1.5×10<sup>4</sup> Нер3В клеток. Клетки инкубировали в течение 24 часов перед очисткой РНК. Эксперименты с однократной дозой проводили при конечной концентрации дуплекса 50нМ, 10 нМ, 1 нМ и 0,1 нМ.

Выделение тотальной РНК проводили с использованием DYNABEADS. Вкратце,

клетки лизировали в 10 мкл лизирующего/связывающего буфера, содержащего 3 мкл гранул на лунку, и перемешивали в течение 10 минут на электростатическом шейкере. Этапы промывки были автоматизированы на Biotek EL406 с использованием магнитной опоры для пластин. Гранулы промывали (в 3 мкл) один раз в буфере А, один раз в буфере В и дважды в буфере Е с промежуточными этапами аспирации. После последней аспирации в каждую лунку добавляли 12 мкл полной RT смеси, как описано ниже.

Для синтеза кДНК (сDNA) в каждую лунку добавляли мастер-микс, состоящий из 1,5 мкл 10X буфера, 0,6 мкл 10X dNTP, 1,5 мкл случайных праймеров, 0,75 мкл обратной транскриптазы, 0,75 мкл ингибитора РНКазы и 9,9 мкл H<sub>2</sub>O на реакцию. Планшеты запечатывали, встряхивали в течение 10 минут на электростатическом шейкере, а затем инкубировали при 37°C в течение 2 часов. После этого планшеты перемешивали при 80°C в течение 8 минут.

RT-qPCR выполняли как описано выше, и относительное кратное изменение рассчитывали, как описано выше.

Результаты анализа трансфекции агентами дсРНК, перечисленными в таблицах 32 и 33, в клетках Нер3В показаны в Таблице 34. Результаты анализов трансфекции агентами дсРНК, перечисленными в Таблицах 32 и 33, первичных гепатоцитов яванского макака (РСН) показаны в Таблице 35.

**Таблица 32. Немодифицированные последовательности смысловых и антисмысловых цепей средств на основе дсРНК, нацеленных на PNPLA3.**

Название дуплекса	Смысловая последовательность от 5' до 3'	SEQ ID NO:	Позиции в NM_025225.2	Антисмысловая последовательность от 5' до 3'	SEQ ID NO:	Позиции в NM_025225.2
AD-518658.1	GUCCUCUCAGAUCUUGUGCGU	1804	375-395	ACGCACAAGAUCUGAGAGGACC U	1938	373-395
AD-518707.1	CAUCCAUCCUUCAACUUAAGU	1805	426-446	ACUUAAGUUGAAGGAUGGAUG GA	1939	424-446
AD-518708.1	AUCCAUCCUUCAACUUAAGCU	1806	427-447	AGCUUAAGUUGAAGGAUGGAU GG	1940	425-447
AD-518709.1	UCCAUCCUUCAACUUAAGCAU	1807	428-448	AUGCUUAAGUUGAAGGAUGGA UG	1941	426-448
AD-518722.1	UUAAGCAAGUUCUCCGACA U	1808	441-461	AUGUCGGAGGAACUUGCUUAAG U	1942	439-461
AD-518789.1	GCAAAAUAGGCAUCUCUCUU U	1809	508-528	AAAGAGAGAUGCCUAUUUUGCC G	1943	506-528
AD-518791.1	AAAUAAGGCAUCUCUCUUAC U	1810	510-530	AGUAAGAGAGAUGCCUAUUUU GC	1944	508-530
AD-518792.1	AAAUAGGCAUCUCUCUUACC U	1811	511-531	AGGUAAGAGAGAUGCCUAUUU UG	1945	509-531
AD-518794.1	AUAGGCAUCUCUCUUACCAG U	1812	513-533	ACUGGUAAGAGAGAUGCCUAUU U	1946	511-533
AD-518800.1	AUCUCUCUUACCAGAGUGUC U	1813	519-539	AGACACUCUGGUAAGAGAGAUG C	1947	517-539
AD-518827.1	ACUUUCGGUCCAAAGACGAA U	1814	565-585	AUUCGUCUUUGGACCGAAAGUC A	1948	563-585
AD-518829.1	UUUCGGUCCAAAGACGAAGU U	1815	567-587	AACUUCGUCUUUGGACCGAAAG U	1949	565-587
AD-518831.2	CGGUCCAAAGACGAAGUCGU U	1816	570-590	AACGACUUCGUCUUUGGACCGA A	1950	568-590
AD-518832.2	GGUCCAAAGACGAAGUCGUG U	1817	571-591	ACACGACUUCGUCUUUGGACCG A	1951	569-591



AD-518857.1	UUGGUAUGUCCUGCUUCAU U	1818	597-617	AAUGAAGCAGGAACAUACCAAG G	1952	595-617
AD-518921.2	UGACAACGUACCCUUCAUUG U	1819	683-703	ACAAUGAAGGGUACGUUGUCAC U	1953	681-703
AD-518922.2	GACAACGUACCCUUCAUUGA U	1820	684-704	AUCAAUGAAGGGUACGUUGUCA C	1954	682-704
AD-518923.2	ACAACGUACCCUUCAUUGAU U	1821	685-705	AAUCAAUGAAGGGUACGUUGUC A	1955	683-705
AD-518924.2	CAACGUACCCUUCAUUGAUG U	1822	686-706	ACAUCAAUGAAGGGUACGUUGU C	1956	684-706
AD-518925.2	AACGUACCCUUCAUUGAUGC U	1823	687-707	AGCAUCAAUGAAGGGUACGUUG U	1957	685-707
AD-518967.1	UAAAGUCAAGUCCACGAACU U	1824	758-778	AAGUUCGUGGACUUGACUUUAG G	1958	756-778
AD-518968.1	AAAGUCAAGUCCACGAACUU U	1825	759-779	AAAGUUCGUGGACUUGACUUUA G	1959	757-779
AD-518976.1	UCCACGAACUUUCUUCAUGU U	1826	768-788	AACAUGAAGAAAGUUCGUGGAC U	1960	766-788
AD-518977.1	CCACGAACUUUCUUCAUGUG U	1827	769-789	ACACAUGAAGAAAGUUCGUGGA C	1961	767-789
AD-518978.1	CACGAACUUUCUUCAUGUGG U	1828	770-790	ACCACAUGAAGAAAGUUCGUGG A	1962	768-790
AD-518979.1	ACGAACUUUCUUCAUGUGGA U	1829	771-791	AUCCACAUGAAGAAAGUUCGUG G	1963	769-791
AD-518980.2	CGAACUUUCUUCAUGUGGAC U	1830	772-792	AGUCCACAUGAAGAAAGUUCGU G	1964	770-792
AD-519043.1	UUCUCUCGAGAGCUUUUGUC U	1831	835-855	AGACAAAAGCUCUCGAGAGAAG G	1965	833-855
AD-519340.1	UGC UACCAUUAGGAUAAUG U	1832	1207-1227	ACAUUAUCCUAAUGGGUAGCAA G	1966	1205-1227
AD-519341.1	GCUACCAUUAGGAUAAUGU U	1833	1208-1228	AACAUUAUCCUAAUGGGUAGCA A	1967	1206-1228
AD-519342.1	CUACCAUUAGGAUAAUGUC U	1834	1209-1229	AGACAUUAUCCUAAUGGGUAGC A	1968	1207-1229

AD-519343.1	UACCCAUUAGGAUAAUGUCU U	1835	1210-1230	AAGACAUUAUCCUAAUGGGUAG C	1969	1208-1230
AD-519344.1	ACCCAUUAGGAUAAUGUCUU U	1836	1211-1231	AAAGACAUUAUCCUAAUGGGUA G	1970	1209-1231
AD-519349.1	UUAGGAUAAUGUCUUAUGU AU	1837	1216-1236	AUACAUAAAGACAUUAUCCUAAU G	1971	1214-1236
AD-519350.1	UAGGAUAAUGUCUUAUGUA AU	1838	1217-1237	AUUACAUAAAGACAUUAUCCUAA U	1972	1215-1237
AD-519477.1	UCACAGGUGUUCACUCGAGU U	1839	1344-1364	AACUCGAGUGAACACCUGUGAG G	1973	1342-1364
AD-519596.1	CUUGGGCAAUAAAGUACCUG U	1840	1544-1564	ACAGGUACUUUAUUGCCCAAGA A	1974	1542-1564
AD-519622.1	UUCCCAGUUUUUCACUAGAG U	1841	1588-1608	ACUCUAGUGAAAAACUGGGAAA G	1975	1586-1608
AD-519666.1	GGCGAGUCUAGCAGAUUCUU U	1842	1632-1652	AAAGAAUCUGCUAGACUCGCCU C	1976	1630-1652
AD-519667.1	GCGAGUCUAGCAGAUUCUUU U	1843	1633-1653	AAAAGAAUCUGCUAGACUCGCC U	1977	1631-1653
AD-519668.1	CGAGUCUAGCAGAUUCUUUC U	1844	1634-1654	AGAAAGAAUCUGCUAGACUCGC C	1978	1632-1654
AD-519669.1	GAGUCUAGCAGAUUCUUUCA U	1845	1635-1655	AUGAAAGAAUCUGCUAGACUCG C	1979	1633-1655
AD-519670.1	AGUCUAGCAGAUUCUUUCAG U	1846	1636-1656	ACUGAAAGAAUCUGCUAGACUC G	1980	1634-1656
AD-519671.1	GUCUAGCAGAUUCUUUCAGA U	1847	1637-1657	AUCUGAAAGAAUCUGCUAGACU C	1981	1635-1657
AD-519672.1	UCUAGCAGAUUCUUUCAGAG U	1848	1638-1658	ACUCUGAAAGAAUCUGCUAGAC U	1982	1636-1658
AD-519691.1	UGC AAAAGUUCCCAUCUUU U	1849	1659-1679	AAAAGAUGGGAAACUUUAGCAC C	1983	1657-1679
AD-519692.1	GCUAAAGUUCCCAUCUUUG U	1850	1660-1680	ACAAAGAUGGGAAACUUUAGCA C	1984	1658-1680
AD-519693.1	CUAAAGUUCCCAUCUUUGU U	1851	1661-1681	AACAAAGAUGGGAAACUUUAGC A	1985	1659-1681

AD-519694.1	UAAAGUUUCCCAUCUUUGUG U	1852	1662-1682	ACACAAAGAUGGGAAACUUUAG C	1986	1660-1682
AD-519696.1	AAGUUUCCCAUCUUUGUGCA U	1853	1664-1684	AUGCACAAAGAUGGGAAACUUU A	1987	1662-1684
AD-67554.6	UCUGAGCUGAGUUGGUUUUA U	1854	1740-1760	AUAAAACCAACUCAGCUCAGAG G	1988	1738-1760
AD-519752.2	CUGAGCUGAGUUGGUUUUAU U	1855	1741-1761	AAUAAAACCAACUCAGCUCAGA G	1989	1739-1761
AD-519753.2	UGAGCUGAGUUGGUUUUAU GU	1856	1742-1762	ACAUAAAACCAACUCAGCUCAG A	1990	1740-1762
AD-519754.8	GAGCUGAGUUGGUUUUAUG AU	1857	1743-1763	AUCAUAAAACCAACUCAGCUC A	1991	1741-1763
AD-519755.4	AGCUGAGUUGGUUUUAUGA AU	1858	1744-1764	AUUCAUAAAACCAACUCAGCUC A	1992	1742-1764
AD-519759.2	GAGUUGGUUUUAUGAAAAG CU	1859	1748-1768	AGCUUUUCAUAAAACCAACUCA G	1993	1746-1768
AD-519760.2	AGUUGGUUUUAUGAAAAGC UU	1860	1749-1769	AAGCUUUUCAUAAAACCAACUC A	1994	1747-1769
AD-519761.2	GUUGGUUUUAUGAAAAGCU AU	1861	1750-1770	AUAGCUUUUCAUAAAACCAACU C	1995	1748-1770
AD-519766.2	UUUUAUGAAAAGCUAGGAA GU	1862	1755-1775	ACUUCCUAGCUUUUCAUAAAAC C	1996	1753-1775
AD-519773.1	AAAAGCUAGGAAGCAACCUU U	1863	1762-1782	AAAGGUUGCUUCCUAGCUUUUC A	1997	1760-1782
AD-519776.1	AGCUAGGAAGCAACCUUUCG U	1864	1765-1785	ACGAAAGGUUGCUUCCUAGCUU U	1998	1763-1785
AD-519777.1	GCUAGGAAGCAACCUUUCGC U	1865	1766-1786	AGCGAAAGGUUGCUUCCUAGCU U	1999	1764-1786
AD-519779.1	UAGGAAGCAACCUUUCGCCU U	1866	1768-1788	AAGGCGAAAGGUUGCUUCCUAG C	2000	1766-1788
AD-519809.1	CCAGCACUUAACUCUAAUAC U	1867	1798-1818	AGUAUUAGAGUUAAGUGCUGG AC	2001	1796-1818
AD-519810.1	CAGCACUUAACUCUAAUACA U	1868	1799-1819	AUGUAUUAGAGUUAAGUGCUG GA	2002	1797-1819

AD-519811.1	AGCACUUAACUCUAAUACAU U	1869	1800-1820	AAUGUAUUAGAGUUAAGUGCU GG	2003	1798-1820
AD-519814.1	ACUUAACUCUAAUACAUCAG U	1870	1803-1823	ACUGAUGUAUUAGAGUUAAGU GC	2004	1801-1823
AD-519820.1	CUCUAAUACAUCAGCAUGCG U	1871	1809-1829	ACGCAUGCUGAUGUAUUAGAGU U	2005	1807-1829
AD-519821.1	UCUAAUACAUCAGCAUGCGU U	1872	1810-1830	AACGCAUGCUGAUGUAUUAGAG U	2006	1808-1830
AD-519822.1	CUAAUACAUCAGCAUGCGUU U	1873	1811-1831	AAACGCAUGCUGAUGUAUUAGA G	2007	1809-1831
AD-519823.1	UAAUACAUCAGCAUGCGUUA U	1874	1812-1832	AUAACGCAUGCUGAUGUAUUAG A	2008	1810-1832
AD-519826.1	UACAUCAGCAUGCGUUAUU U	1875	1815-1835	AAAUUAACGCAUGCUGAUGUAU U	2009	1813-1835
AD-519827.1	ACAUCAGCAUGCGUUAUUUC U	1876	1816-1836	AGAAUUAACGCAUGCUGAUGUA U	2010	1814-1836
AD-519828.3	CAUCAGCAUGCGUUAUUUCA U	1877	1817-1837	AUGAAUUAACGCAUGCUGAUGU A	2011	1815-1837
AD-519830.1	UCAGCAUGCGUUAUUUCAGC U	1878	1819-1839	AGCUGAAUUAACGCAUGCUGAU G	2012	1817-1839
AD-519832.1	AGCAUGCGUUAUUUCAGCUG U	1879	1821-1841	ACAGCUGAAUUAACGCAUGCUG A	2013	1819-1841
AD-519887.1	GUCCCUACUGACUGUUUCG U	1880	1876-1896	ACGAAACAGUCAGUAAGGGACC C	2014	1874-1896
AD-519888.1	UCCCUACUGACUGUUUCGU U	1881	1877-1897	AACGAAACAGUCAGUAAGGGAC C	2015	1875-1897
AD-519889.1	CCCUACUGACUGUUUCGUG U	1882	1878-1898	ACACGAAACAGUCAGUAAGGGGA C	2016	1876-1898
AD-519890.1	CCUACUGACUGUUUCGUGG U	1883	1879-1899	ACCACGAAACAGUCAGUAAGGG A	2017	1877-1899
AD-519929.1	UUCAGCAUGAGGUUCUAG U	1884	1919-1939	ACUAAGAACCUCAUGCUGGAAC A	2018	1917-1939
AD-519931.1	CCAGCAUGAGGUUCUAGAA U	1885	1921-1941	AUUCUAAGAACCUCAUGCUGGA A	2019	1919-1941

AD-519932.1	CAGCAUGAGGUUCUAGAAU U	1886	1922-1942	AAUUCUAAGAACCUCAUGCUGG A	2020	1920-1942
AD-519933.1	AGCAUGAGGUUCUAGAAUG U	1887	1923-1943	ACAUUCUAAGAACCUCAUGCUG G	2021	1921-1943
AD-519935.2	CAUGAGGUUCUAGAAUGAC U	1888	1925-1945	AGUCAUUCUAAGAACCUCAUGC U	2022	1923-1945
AD-519942.1	UUCUUAGAAUGACAGGUGUU U	1889	1932-1952	AAACACCUGUCAUUCUAAGAAC C	2023	1930-1952
AD-520005.1	GGUCUGCAAAGAUGAUAAACC U	1890	2097-2117	AGGUUAUCAUCUUUGCAGACCA C	2024	2095-2117
AD-520006.1	GUCUGCAAAGAUGAUAACCU U	1891	2098-2118	AAGGUUAUCAUCUUUGCAGACC A	2025	2096-2118
AD-520007.1	UCUGCAAAGAUGAUAACCUU U	1892	2099-2119	AAAGGUUAUCAUCUUUGCAGAC C	2026	2097-2119
AD-520008.1	CUGCAAAGAUGAUAACCUUG U	1893	2100-2120	ACAAGGUUAUCAUCUUUGCAGA C	2027	2098-2120
AD-520011.1	CAAAGAUGAUAACCUUGACU U	1894	2103-2123	AAGUCAAGGUUAUCAUCUUUGC A	2028	2101-2123
AD-520020.1	UAACCUUGACUACUAAAAAC U	1895	2112-2132	AGUUUUUAGUAGUCAAGGUUA UC	2029	2110-2132
AD-520021.1	AACCUUGACUACUAAAAACG U	1896	2113-2133	ACGUUUUUAGUAGUCAAGGUU AU	2030	2111-2133
AD-520022.1	ACCUUGACUACUAAAAACGU U	1897	2114-2134	AACGUUUUUAGUAGUCAAGGU UA	2031	2112-2134
AD-520023.1	CCUUGACUACUAAAAACGUC U	1898	2115-2135	AGACGUUUUUAGUAGUCAAGG UU	2032	2113-2135
AD-520024.1	CUUGACUACUAAAAACGUCU U	1899	2116-2136	AAGACGUUUUUAGUAGUCAAG GU	2033	2114-2136
AD-520025.1	UUGACUACUAAAAACGUCUC U	1900	2117-2137	AGAGACGUUUUUAGUAGUCAA GG	2034	2115-2137
AD-520034.1	GGGUAACAAGAUGAUAAUCU U	1901	2145-2165	AAGAUUAUCAUCUUGUUACCCC C	2035	2143-2165
AD-520035.3	GGUAACAAGAUGAUAAUCUA U	1902	2146-2166	AUAGAUUAUCAUCUUGUUACCC C	2036	2144-2166

AD-520036.1	GUAACAAGAUGAUAAUCUAC U	1903	2147-2167	AGUAGAUUAUCAUCUUGUUACC C	2037	2145-2167
AD-520037.1	UAACAAGAUGAUAAUCUACU U	1904	2148-2168	AAGUAGAUUAUCAUCUUGUUAC C	2038	2146-2168
AD-520038.1	AACAAGAUGAUAAUCUACUU U	1905	2149-2169	AAAGUAGAUUAUCAUCUUGUU AC	2039	2147-2169
AD-520053.1	UUUUAGAACACCUUUUUCAC U	1906	2171-2191	AGUGAAAAAGGUGUUCUAAAA UU	2040	2169-2191
AD-520060.3	ACACCUUUUUCACCUAACUA U	1907	2178-2198	AUAGUUAGGUGAAAAAGGUGU UC	2041	2176-2198
AD-520061.3	CACCUUUUUCACCUAACUAA U	1908	2179-2199	AUUAGUUAGGUGAAAAAGGUG UU	2042	2177-2199
AD-520064.5	CUUUUUCACCUAACUAAAAU U	1909	2182-2202	AAUUUUAGUUAGGUGAAAAAG GU	2043	2180-2202
AD-520065.4	UUUUUCACCUAACUAAAAUA U	1910	2183-2203	AUAUUUUAGUUAGGUGAAAAA GG	2044	2181-2203
AD-520066.2	UUUUCACCUAACUAAAAUAA U	1911	2184-2204	AUUAUUUUAGUUAGGUGAAAA AG	2045	2182-2204
AD-520067.3	UUUCACCUAACUAAAAUAAU U	1912	2185-2205	AAUUAUUUUAGUUAGGUGAAA AA	2046	2183-2205
AD-75289.4	UUCACCUAACUAAAAUAAUG U	1913	2186-2206	ACAUUAUUUUAGUUAGGUGAA AA	2047	2184-2206
AD-520068.3	UCACCUAACUAAAAUAAUGU U	1914	2187-2207	AACAUAUUUUAGUUAGGUGA AA	2048	2185-2207
AD-520069.3	CACCUAACUAAAAUAAUGUU U	1915	2188-2208	AAACAUAUUUUAGUUAGGUG AA	2049	2186-2208
AD-520087.1	AUGUAAGGAAGCGUUGUUAC U	1916	2227-2247	AGUAACAACGCUUCCUACA UU	2050	2225-2247
AD-520095.1	AAGCGUUGUUACCUGUUGAA U	1917	2235-2255	AUUCAACAGGUAACAACGCUUC C	2051	2233-2255
AD-520096.1	AGCGUUGUUACCUGUUGAAU U	1918	2236-2256	AAUUCAACAGGUAACAACGCUU C	2052	2234-2256
AD-520098.2	GUUGUUACCUGUUGAAUUUU U	1919	2239-2259	AAAAAUUCAACAGGUAACAACG C	2053	2237-2259

AD-75256.2	UUGUUACCUGUUGAAUUUUG U	1920	2240-2260	ACAAAAUUCAACAGGUAACAAC G	2054	2238-2260
AD-520099.3	UGUUACCUGUUGAAUUUUGU U	1921	2241-2261	AACAAAAUUCAACAGGUAACAA C	2055	2239-2261
AD-67575.8	UUACCUGUUGAAUUUUGUAU U	1922	2243-2263	AAUACAAAAUUCAACAGGUAAC A	2056	2241-2263
AD-520101.3	UACCUGUUGAAUUUUGUAUU U	1923	2244-2264	AAAUACAAAAUUCAACAGGUAA C	2057	2242-2264
AD-67605.8	ACCUGUUGAAUUUUGUAUUA U	1924	2245-2265	AUAAUACAAAAUUCAACAGGUA A	2058	2243-2265
AD-520102.1	CUGUUGAAUUUUGUAUUAU GU	1925	2247-2267	ACAUAAUACAAAAUUCAACAGG U	2059	2245-2267
AD-520103.1	GUUGAAUUUUGUAUUAUGU GU	1926	2249-2269	ACACAUAAUACAAAAUUCAACA G	2060	2247-2269
AD-520123.1	CAGUGAGAUGUUAGUAGAA UU	1927	2272-2292	AAUUCUACUAACAUCUCACUGA U	2061	2270-2292
AD-520127.1	GAGAUGUUAGUAGAAUAAG CU	1928	2276-2296	AGCUUAUUCUACUAACAUCUCA C	2062	2274-2296
AD-520133.1	UAGUAGAAUAAGCCUAAAA U	1929	2283-2303	AUUUUAAGGCUUAUUCUACUAA C	2063	2281-2303
AD-520350.1	GCUGAGAUUGCACCAUUUCA U	1930	2542-2562	AUGAAAUGGUGCAAUCUCAGCU C	2064	2540-2562
AD-520351.1	CUGAGAUUGCACCAUUUCAU U	1931	2543-2563	AAUGAAAUGGUGCAAUCUCAGC U	2065	2541-2563
AD-520352.2	UGAGAUUGCACCAUUUCAUU U	1932	2544-2564	AAAUGAAAUGGUGCAAUCUCAG C	2066	2542-2564
AD-520354.1	AGAUUGCACCAUUUCAUCC U	1933	2546-2566	AGGAAUGAAAUGGUGCAAUCUC A	2067	2544-2566
AD-520391.1	AACAAAAUAUCUAGUGUGC U	1934	2616-2636	AGCACACUAGAUUAUUUUGUUU U	2068	2614-2636
AD-520393.1	CAAAAUAAUCUAGUGUGCAG U	1935	2618-2638	ACUGCACACUAGAUUAUUUUGU U	2069	2616-2638
AD-520467.2	UUGAACCUGGCUUAUUUUCU U	1936	2714-2734	AAGAAAUAAGCCAGGUUCAAG U	2070	2712-2734

AD-520481.1	CACAUGGUCAGUGAGUUUCU U	1937	2748-2768	AAGAAACUCACUGACCAUGUGG G	2071	2746-2768
-------------	---------------------------	------	-----------	-----------------------------	------	-----------

**Таблица 33. Модифицированные последовательности смысловых и антисмысловых цепей средств на основе дсРНК, нацеленных на PNPLA3.**

Название дуплекса	Смысловая последовательность от 5' до 3'	SE Q ID NO:	Антисмысловая последовательность от 5' до 3'	SE Q ID NO:	целевая последовательность мРНК	SE Q ID NO:
AD-518658.1	gsusccucUfcAfGfAfucuuugug cuL96	207 2	asCfsgcaCfaAfGfaucuGfaGfaggacscsu	220 6	AGGUCCUCUCAGAUCUUG UGCGG	234 0
AD-518707.1	csasuccaUfcCfUfUfcaacuuaa guL96	207 3	asCfsuuaAfgUfUfgaagGfaUfggauugsgsa	220 7	UCCAUCAUCCUUAACUU AAGC	234 1
AD-518708.1	asusccauCfcUfUfCfaacuuaag cuL96	207 4	asGfscuuAfaGfUfugaGfgAfuggausgs g	220 8	CCAUCAUCCUUAACUUA AGCA	234 2
AD-518709.1	uscscaucCfuUfCfAfacuuaagc auL96	207 5	asUfsgcuUfaAfGfuugaAfgGfauggasus g	220 9	CAUCAUCCUUAACUUA GCAA	234 3
AD-518722.1	ususaagcAfaGfUfUfccuccgac auL96	207 6	asUfsgucGfgAfGfgaacUfuGfcuuaasgsu	221 0	ACUUAAGCAAGUCCUCC GACAG	234 4
AD-518789.1	gscsaaaaUfaGfGfCfaucucucu uuL96	207 7	asAfsagaGfaGfAfugccUfaUfuuuugscscg	221 1	CGGCAAAUAGGCAUCUC UCUUA	234 5
AD-518791.1	asasaauaGfgCfAfUfcucucuua cuL96	207 8	asGfsuaaGfaGfAfgaugCfcUfauuuusgsc	221 2	GCAAAUAGGCAUCUCUC UUACC	234 6
AD-518792.1	asasauagGfcAfUfCfucucuua cuL96	207 9	asGfsguaAfgAfGfagauGfcCfuuuuusg	221 3	CAAAUAGGCAUCUCUCU UACCA	234 7
AD-518794.1	asusagcAfuCfUfCfucuuacca guL96	208 0	asCfsuggUfaAfGfagagAfuGfccuausus	221 4	AAAUAGGCAUCUCUCUUA CCAGA	234 8
AD-518800.1	asuscucuCfuUfAfCfcagagug ucuL96	208 1	asGfsacaCfuCfUfgguaAfgAfgagaugsc	221 5	GCAUCUCUCUUAACCAGAG UGUCU	234 9
AD-518827.1	ascsuuucGfgUfCfCfaaagacga auL96	208 2	asUfsucgUfcUfUfuggaCfcGfaaaguscsa	221 6	UGACUUUCGGUCCAAAGA CGAAG	235 0
AD-518829.1	ususucggUfcCfAfAfagacgaa guL96	208 3	asAfscuuCfgUfCfuuuGfaCfcgaaasgsu	221 7	ACUUUCGGUCCAAAGACG AAGUC	235 1
AD-518831.2	csgsguccAfaAfGfAfcgaaguc	208	asAfscgaCfuUfCfugcuUfuGfgaccgsasa	221	UUCGGUCCAAAGACGAAG	235



	guuL96	4		8	UCGUG	2
AD-518832.2	gsgsuccaAfaGfAfCfgaagucg uguL96	208 5	asCfsacgAfcUfUfcgucUfuUfggaccsgsa	221 9	UCGGUCCAAAGACGAAGU CGUGG	235 3
AD-518857.1	usugguaUfgUfUfcfcugcuuc auuL96	208 6	asAfsugaAfgCfAfggaaCfaUfaccasgsg	222 0	CCUUGGUAUGUUCCUGCU UCAUC	235 4
AD-518921.2	usgsacaaCfgUfAfCfccuucuu guL96	208 7	asCfsaauGfaAfGfgguaCfgUfugucascu	222 1	AGUGACAACGUACCCUUC AUUGA	235 5
AD-518922.2	gsascaacGfuAfCfCfcuucuuug auL96	208 8	asUfscAAUfgAfAfggguAfcGfuugucsasc	222 2	GUGACAACGUACCCUUCA UUGAU	235 6
AD-518923.2	ascsaacgUfaCfCfcfuucuuuga uuL96	208 9	asAfsucaAfuGfAfgggUfaCfuuuguscsa	222 3	UGACAACGUACCCUUCAU UGAUG	235 7
AD-518924.2	csasacguAfcCfCfufucauugau guL96	209 0	asCfsaucAfaUfGfaaggGfuAfcguugsusc	222 4	GACAACGUACCCUUCAU GAUGC	235 8
AD-518925.2	asascguaCfcCfUfUfcuugaug cuL96	209 1	asGfscauCfaAfUfgaagGfgUfacguusgsu	222 5	ACAACGUACCCUUCAU AUGCC	235 9
AD-518967.1	usasaaguCfaAfGfUfccacgaac uuL96	209 2	asAfsuuCfgUfGfgacuUfgAfcuuuasgs g	222 6	CUAAAGUCAAGUCCACG AACUU	236 0
AD-518968.1	asasagucAfaGfUfcfcacgaacu uuL96	209 3	asAfsaguUfcGfUfggacUfuGfaccuusasg	222 7	CUAAAGUCAAGUCCACGA ACUUU	236 1
AD-518976.1	uscscacgAfaCfUfUfcuucuu guuL96	209 4	asAfscauGfaAfGfaagUfuCfugggascu	222 8	AGUCCACGAACUUUCUUC AUGUG	236 2
AD-518977.1	cscsacgaAfcUfUfUfcuucaug uguL96	209 5	asCfsacaUfgAfAfgaaaGfuUfcguggsasc	222 9	GUCCACGAACUUUCUUCA UGUGG	236 3
AD-518978.1	csascgaaCfuUfUfcfuucuu ggguL96	209 6	asCfscacAfuGfAfgaaAfgUfcgugsgsa	223 0	UCCACGAACUUUCUUCA GUGGA	236 4
AD-518979.1	ascsgaacUfuUfcUfucuuug gauL96	209 7	asUfscCAfaUfGfaagaAfaGfuucgusgsg	223 1	CCACGAACUUUCUUCAUG UGGAC	236 5
AD-518980.2	csgsaacuUfuCfUfUfcuugug acuL96	209 8	asGfsuccAfcAfUfgaagAfaAfguucgsusg	223 2	CACGAACUUUCUUCAUGU GGACA	236 6
AD-519043.1	ususcucuCfGfAfgcuuuug ucuL96	209 9	asGfsacaAfaAfGfcucuCfgAfgagaasgsg	223 3	CCUUCUCUCGAGAGCUUU UGUCC	236 7
AD-519340.1	usgscuacCfcAfUfUfaggauaa uguL96	210 0	asCfsauuAfuCfCfuaauGfgGfuagcasag	223 4	CUUGCUCACCAUUAAGGAU AAUGU	236 8
AD-519341.1	gscsuaccCfaUfUfAfggaaau	210	asAfscauUfaUfCfuaaUfgGfguagcsasa	223	UUGCUCACCAUUAAGGAU	236

	guuL96	1		5	AUGUC	9
AD-519342.1	csusaccAfuUfAfGfgauaaug ucuL96	210 2	asGfsacaUfuAfUfccuaAfuGfgguagscsa	223 6	UGCUACCCAUUAGGAUAA UGUCU	237 0
AD-519343.1	usascccaUfuAfGfGfauaaugu cuuL96	210 3	asAfsagacAfuUfAfuccuAfaUfggguasgsc	223 7	GCUACCCAUUAGGAUAAU GUCUU	237 1
AD-519344.1	ascsccauUfaGfGfAfuaaaguc uuuL96	210 4	asAfsagaCfaUfUfauccUfaAfugggusasg	223 8	CUACCCAUUAGGAUAAUG UCUUA	237 2
AD-519349.1	ususaggaUfaAfUfGfucuuau uauL96	210 5	asUfsacaUfaAfGfacauUfaUfccuaasusg	223 9	CAUUAGGAUAAUGUCUUA UGUAA	237 3
AD-519350.1	usasggauAfaUfGfUfcuuau aaL96	210 6	asUfsuacAfuAfAfgacaUfuAfuccuasasu	224 0	AUUAGGAUAAUGUCUUAU GUAAU	237 4
AD-519477.1	uscscagGfuGfUfUfcacucga guuL96	210 7	asAfsucGfaGfUfgaacAfcCfugugasgsg	224 1	CCUCACAGGUGUUCACUCG AGUG	237 5
AD-519596.1	csusugggCfaAfUfAfaaguacc uguL96	210 8	asCfsaggUfaCfUfuauUfgCfccaagsasa	224 2	UUCUUGGGCAAUAAAGUA CCUGC	237 6
AD-519622.1	ususcccaGfuUfUfUfucacuag aguL96	210 9	asCfsucuAfgUfGfaaaaAfcUfgggaasasg	224 3	CUUUCCCAGUUUUUCACU AGAGA	237 7
AD-519666.1	gsgscgagUfcUfAfGfcagauuc uuuL96	211 0	asAfsagaAfuCfUfgcuaGfaCfucgccsusc	224 4	GAGGCGAGUCUAGCAGAU UCUUU	237 8
AD-519667.1	gscsgaguCfuAfGfCfagauucu uuuL96	211 1	asAfsaagAfaUfCfugcuAfgAfcucgcscsu	224 5	AGGCGAGUCUAGCAGAUU CUUUC	237 9
AD-519668.1	csgsagucUfaGfCfAfgauucuu ucuL96	211 2	asGfsaaaGfaAfUfcugcUfaGfacucgscsc	224 6	GGCGAGUCUAGCAGAUUC UUUCA	238 0
AD-519669.1	gsasgucuAfgCfAfGfauucuuu cauL96	211 3	asUfsgaaAfgAfAfucugCfuAfgacucsgsc	224 7	GCGAGUCUAGCAGAUUCU UUCAG	238 1
AD-519670.1	asgsucuaGfcAfGfAfuucuuuc aguL96	211 4	asCfsugaAfaGfAfaucuGfcUfagacuscsg	224 8	CGAGUCUAGCAGAUUCUU UCAGA	238 2
AD-519671.1	gsuscuagCfaGfAfUfucuuuca gauL96	211 5	asUfscugAfaAfGfaaucUfgCfuagacsusc	224 9	GAGUCUAGCAGAUUCUUU CAGAG	238 3
AD-519672.1	uscscuagCfaGfAfUfucuuucag aguL96	211 6	asCfsucuGfaAfAfgaaucfuGfcuagacsusc	225 0	AGUCUAGCAGAUUCUUUC AGAGG	238 4
AD-519691.1	usgscuaaAfgUfUfUfcccaucu uuuL96	211 7	asAfsaagAfuGfGfgaaaCfuUfuagcascsc	225 1	GGUGCUAAAGUUUCCCAU CUUUG	238 5
AD-519692.1	gscsuaaaGfuUfUfCfccaucu	211	asCfsaaaGfaUfGfggaaAfcUfuuagcsasc	225	GUGCUIAAAGUUUCCCAUC	238

	uguL96	8		2	UUUGU	6
AD-519693.1	csusaaagUfuUfCfCfcaucuuuu guuL96	211 9	asAfscaaAfgAfUfgggaAfaCfuuuagscsa	225 3	UGCUBAAAGUUUCCCAUCU UUGUG	238 7
AD-519694.1	usasaaguUfuCfCfCfcaucuuug uguL96	212 0	asCfsacaAfaGfAfugggAfaAfcuuuasgsc	225 4	GCUAAAAGUUUCCCAUCUU UGUGC	238 8
AD-519696.1	asasguuuCfcCfAfUfcuuugug cauL96	212 1	asUfsgcaCfaAfAfgaugGfgAfaacuususa	225 5	UAAAGUUUCCCAUCUUUG UGCAG	238 9
AD-67554.6	uscugagCfuGfAfGfuugguuu uauL96	212 2	asUfsaaaAfcCfAfacucAfgCfucagasgsg	225 6	CCUCUGAGCUGAGUUGGU UUUAU	239 0
AD-519752.2	csusgagcUfgAfGfUfugguuuu auuL96	212 3	asAfsuaaAfaCfCfaacuCfaGfcucagsasg	225 7	CUCUGAGCUGAGUUGGUU UUAUG	239 1
AD-519753.2	usgsagcuGfaGfUfUfguuuuu uguL96	212 4	asCfsauaAfaAfCfcaacUfcAfgcucasgsa	225 8	UCUGAGCUGAGUUGGUUU UAUGA	239 2
AD-519754.8	gsasgcugAfgUfUfGfguuuuu gauL96	212 5	asUfscouAfaAfAfccaaCfuCfagcucsasg	225 9	CUGAGCUGAGUUGGUUUU AUGAA	239 3
AD-519755.4	asgscugaGfuUfGfGfuuuuau aauL96	212 6	asUfsucaUfaAfAfaccaAfcUfcagcuscsa	226 0	UGAGCUGAGUUGGUUUUA UGAAA	239 4
AD-519759.2	gsasguugGfuUfUfUfaugaaaa gcuL96	212 7	asGfscuuUfuCfAfuaaaAfcCfaacucsasg	226 1	CUGAGUUGGUUUUAUGAA AAGCU	239 5
AD-519760.2	asgsuuggUfuUfUfAfugaaaag cuuL96	212 8	asAfsagcuUfuUfCfauaaAfaCfcaacuscsa	226 2	UGAGUUGGUUUUAUGAAA AGCUA	239 6
AD-519761.2	gsusugguUfuUfAfUfgaaaagc uauL96	212 9	asUfsagcUfuUfUfcauaAfaAfccaacsusc	226 3	GAGUUGGUUUUAUGAAAA GCUAG	239 7
AD-519766.2	ususuuauGfaAfAfAfgcuagga aguL96	213 0	asCfsuucCfuAfGfcuuuUfcAfuaaaascsc	226 4	GGUUUUAUGAAAAGCUAG GAAGC	239 8
AD-519773.1	asasaagcUfaGfGfAfagcaaccu uuL96	213 1	asAfsaggUfuGfCfuuccUfaGfcuuuuscsa	226 5	UGAAAAGCUAGGAAGCAA CCUUU	239 9
AD-519776.1	asgscuagGfaAfGfCfaaccuuuc guL96	213 2	asCfsgaaAfgGfUfugcuUfcCfuagcususu	226 6	AAAGCUAGGAAGCAACCU UUCGC	240 0
AD-519777.1	gscsuaggAfaGfCfAfacuuuc gcuL96	213 3	asGfscgaAfaGfGfuugcUfuCfcuagcsusu	226 7	AAGCUAGGAAGCAACCUU UCGCC	240 1
AD-519779.1	usasggaaGfcAfAfCfcuuucgc cuuL96	213 4	asAfsggcGfaAfAfgguuGfcUfuccuasgsc	226 8	GCUAGGAAGCAACCUUUC GCCUG	240 2
AD-519809.1	cscsagcaCfuUfAfAfcucuaaua	213	asGfsuauUfaGfAfguuuAfgUfgcuggsasc	226	GUCCAGCACUUAACUCUA	240

	cuL96	5		9	AUACA	3
AD-519810.1	csasgcacUfuAfAfCfucuaauac auL96	213 6	asUfsguaUfuAfGfaguUfaGfugcugsgs a	227 0	UCCAGCACUUAACUCUAA UACAU	240 4
AD-519811.1	asgscacuUfaAfCfUfcuaauaca uuL96	213 7	asAfsuguAfuUfAfgaguUfaAfgugcusgs g	227 1	CCAGCACUUAACUCUAAU ACAUC	240 5
AD-519814.1	ascsuuaaCfuCfUfAfaucacuca guL96	213 8	asCfsugaUfgUfAfuuaagAfgUfuaagusgsc	227 2	GCACUUAACUCUAAUACA UCAGC	240 6
AD-519820.1	csuscuaaUfaCfAfUfcagcaugc guL96	213 9	asCfsgcaUfgCfUfgaugUfaUfuagagsusu	227 3	AACUCUAAUACAUCAGCA UGCGU	240 7
AD-519821.1	uscuaauAfcAfUfCfagcaugc guuL96	214 0	asAfcscgCfuGfCfugauGfuAfuuaagsusu	227 4	ACUCUAAUACAUCAGCAU GCGUU	240 8
AD-519822.1	csusaauaCfaUfCfAfgcaugcgu uuL96	214 1	asAfsacgCfaUfGfcugaUfgUfauuagsasg	227 5	CUCUAAUACAUCAGCAUG CGUUA	240 9
AD-519823.1	usasauacAfuCfAfGfcaugcgu uauL96	214 2	asUfsaacGfcAfUfgcugAfuGfuuuasgsa	227 6	UCUAAUACAUCAGCAUGC GUUAA	241 0
AD-519826.1	usascaucAfgCfAfUfgcguuaa uuuL96	214 3	asAfsauuAfaCfGfcaugCfuGfauguasusu	227 7	AAUACAUCAGCAUGCGUU AAUUC	241 1
AD-519827.1	ascsaucaGfcAfUfGfcguuaau ucuL96	214 4	asGfsaaUfaAfCfGcauGfcUfgaugusasu	227 8	AUACAUCAGCAUGCGUUA AUUCA	241 2
AD-519828.3	csasucagCfaUfGfCfguuaauuc auL96	214 5	asUfsgaaUfuAfAfcgcaUfgCfugaugsusa	227 9	UACAUCAGCAUGCGUUA UUCAG	241 3
AD-519830.1	uscscagcaUfgCfGfUfuauuca gcuL96	214 6	asGfscugAfaUfUfaacgCfaUfgcugasusg	228 0	CAUCAGCAUGCGUUAU CAGCU	241 4
AD-519832.1	asgscaugCfgUfUfAfaucagc uguL96	214 7	asCfsagcUfgAfAfuuaaCfcCfaugcusgsa	228 1	UCAGCAUGCGUUAU GCUGG	241 5
AD-519887.1	gsuscccuUfaCfUfGfacuguuu cguL96	214 8	asCfsgaaAfcAfGfucagUfaAfgggacscsc	228 2	GGUCCCUACUGACUGU UUCGU	241 6
AD-519888.1	uscscuuAfcUfGfAfcuguuuc guuL96	214 9	asAfcsgaAfaCfAfgucaGfuAfaaggascsc	228 3	GGUCCCUACUGACUGU UCGUG	241 7
AD-519889.1	cscscuuaCfuGfAfCfuguuucg uguL96	215 0	asCfsacgAfaAfCfagucAfgUfaaggsasc	228 4	GUCCCUACUGACUGUU CGUGG	241 8
AD-519890.1	cscsuuacUfgAfCfUfguuucgu ggguL96	215 1	asCfscacGfaAfAfcaguCfaGfuaggsasa	228 5	UCCCUACUGACUGUU GUGGC	241 9
AD-519929.1	ususccagCfaUfGfAfgguucuu	215	asCfsuaaGfaAfCfucuaUfgCfuggaascsa	228	UGUCCAGCAUGAGGUUC	242

	aguL96	2		6	UUAGA	0
AD-519931.1	cscsagcaUfgAfGfGfuucuuag aauL96	215 3	asUfsucuAfaGfAfacuCfaUfgcuggsasa	228 7	UUCCAGCAUGAGGUUCUU AGAAU	242 1
AD-519932.1	csasgcauGfaGfGfUfucuuaga aauL96	215 4	asAfsuucUfaAfGfaaccUfcAfugcugsgsa	228 8	UCCAGCAUGAGGUUCUUA GAAUG	242 2
AD-519933.1	asgscaugAfgGfUfUfcuuagaa uguL96	215 5	asCfsauuCfuAfAfgaacCfuCfaugcusgsg	228 9	CCAGCAUGAGGUUCUUAG AAUGA	242 3
AD-519935.2	csasugagGfuUfCfUfuagaau acuL96	215 6	asGfsucaUfuCfUfaagaAfcCfucaugscsu	229 0	AGCAUGAGGUUCUUAGAA UGACA	242 4
AD-519942.1	ususcuaaGfaAfUfGfacaggug uuuL96	215 7	asAfsacaCfcUfGfucuuUfcUfaagaascsc	229 1	GGUUCUUAGAAUGACAGG UGUUU	242 5
AD-520005.1	gsgsucugCfaAfAfGfaugauaa ccuL96	215 8	asGfsguuAfuCfAfucuuUfgCfagaccsasc	229 2	GUGGUCUGCAAAGAUGAU AACCU	242 6
AD-520006.1	gsuscugcAfaAfGfAfugauaac cuuL96	215 9	asAfsnguUfaUfCfaucuUfuGfcagacscsa	229 3	UGGUCUGCAAAGAUGAUA ACCUU	242 7
AD-520007.1	uscugcaAfaGfAfUfgauaac uuuL96	216 0	asAfsaggUfuAfUfcaucUfuUfgcagascsc	229 4	GGUCUGCAAAGAUGAUAA CCUUG	242 8
AD-520008.1	csusgcaaAfgAfUfGfauaacu uguL96	216 1	asCfsaagGfuUfAfucuuCfuUfugcagsasc	229 5	GUCUGCAAAGAUGAUAA CUUGA	242 9
AD-520011.1	csasaagaUfgAfUfAfacuugac uuL96	216 2	asAfsugcAfaGfGfuuuCfaUfcuuugscsa	229 6	UGCAAAGAUGAUAAACCUU GACUA	243 0
AD-520020.1	usasaccuUfgAfCfUfacuaaaaa cuL96	216 3	asGfsuuUfuAfGfuaguCfaAfgguuasus c	229 7	GAUAACCUUGACUACUAA AAACG	243 1
AD-520021.1	asasccuGfaCfUfAfcuaaaaac guL96	216 4	asCfsguuUfuUfAfguagUfcAfagguusas u	229 8	AUAACCUUGACUACUAAA AACGU	243 2
AD-520022.1	ascscuugAfcUfAfCfuaaaaacg uuL96	216 5	asAfsnguUfuUfUfaguaGfuCfaaggususa	229 9	UAACCUUGACUACUAAAA ACGUC	243 3
AD-520023.1	cscsuugaCfuAfCfUfaaaaacgu cuL96	216 6	asGfsacgUfuUfUfuaguAfgUfcaaggsusu	230 0	AACCUUGACUACUAAAA CGUCU	243 4
AD-520024.1	csusugacUfaCfUfAfaaaacguc uuL96	216 7	asAfsnacGfuUfUfuuuagUfaGfucaagsgsu	230 1	ACCUUGACUACUAAAAAC GUCUC	243 5
AD-520025.1	usugacuAfcUfAfAfaaacguc ucuL96	216 8	asGfsagaCfgUfUfuuuGfuAfgucaasgsg	230 2	CCUUGACUACUAAAAACG UCUCC	243 6
AD-520034.1	gsgsguaaCfaAfGfAfugauaa uuL96	216	asAfsnguUfaUfCfaucuUfgUfuaccscsc	230	GGGGUAACAAGAUGAUA	243

	cuuL96	9		3	AUCUA	7
AD-520035.3	gsgsuaacAfaGfAfUfgauaac uauL96	217 0	asUfsagaUfuAfUfcaucUfuGfuuaccscsc	230 4	GGGGUAACAAGAUGAUAA UCUAC	243 8
AD-520036.1	gsusaacaAfgAfUfGfauaacu acuL96	217 1	asGfsuagAfuUfAfucacUfuUfguuaccscsc	230 5	GGGUAACAAGAUGAUAAU CUACU	243 9
AD-520037.1	usasacaGfaUfGfAfuaaacuac uuL96	217 2	asAfsguaGfaUfUfaucaUfcUfuguuascsc	230 6	GGUAACAAGAUGAUAAUC UACUU	244 0
AD-520038.1	asascaagAfuGfAfUfaucuaacu uuL96	217 3	asAfsaguAfgAfUfuacAfuCfuuguusasc	230 7	GUAACAAGAUGAUAAUCU ACUUA	244 1
AD-520053.1	usuuuagAfaCfAfCfcuuuuuc acuL96	217 4	asGfsugaAfaAfAfggugUfuCfuaaaasusu	230 8	AAUUUUAGAACACCUUUU UCACC	244 2
AD-520060.3	ascsaccuUfuUfUfCfaccuaacu auL96	217 5	asUfsaguUfaGfGfugaaAfaAfggugususc	230 9	GAACACCUUUUCACCUA ACUAA	244 3
AD-520061.3	csasccuuUfuUfCfAfcuaacua auL96	217 6	asUfsuagUfuAfGfgugaAfaAfggugsus u	231 0	AACACCUUUUCACCUAAC UAAA	244 4
AD-520064.5	csuuuuuUfaCfCfUfaacuaaaa uuL96	217 7	asAfsuuuUfaGfUfuaggUfgAfaaaagsgsu	231 1	ACCUUUUCACCUAACUA AAUA	244 5
AD-520065.4	usuuuucAfcCfUfAfacuaaaa uauL96	217 8	asUfsauuUfuAfGfuagGfuGfaaaaasgsg	231 2	CCUUUUUCACCUAACUA AAUA	244 6
AD-520066.2	usuuucaCfcUfAfAfcuaaaaau auL96	217 9	asUfsuauUfuUfAfguaGfgUfgaaaasag	231 3	CUUUUCACCUAACUAAA AUAAU	244 7
AD-520067.3	usucacCfuAfAfCfuaaaauaa uuL96	218 0	asAfsuuuUfuUfUfaguUfgGfugaasasa	231 4	UUUUUCACCUAACUAAA UAAUG	244 8
AD-75289.4	ususcaccUfaAfCfUfaaaaau guL96	218 1	asCfsauuAfuUfUfuaguUfaGfgugaasasa	231 5	UUUCACCUAACUAAA AAUGU	244 9
AD-520068.3	uscsaccuAfaCfUfAfaaaaau uuL96	218 2	asAfscauUfaUfUfuagUfuAfggugasasa	231 6	UUUCACCUAACUAAA AUGUU	245 0
AD-520069.3	csasccuaAfcUfAfAfaaaaau uuL96	218 3	asAfsacaUfuAfUfuuuuGfuUfaggugsasa	231 7	UUCACCUAACUAAA UGUUU	245 1
AD-520087.1	asusguaaGfgAfAfGfcguugu acuL96	218 4	asGfsuaaCfaAfCfcguuUfuUfacausus	231 8	AAAUGUAAGGAAGCGUUG UUACC	245 2
AD-520095.1	asasgcuUfgUfUfAfcguug aaL96	218 5	asUfsucaAfcAfGfguaaCfaAfcgcuuscsc	231 9	GGAAGCGUUGUUACCUGU UGAAU	245 3
AD-520096.1	asgscguUfuUfAfCfcuguuga	218	asAfsuucAfaCfAfgguaAfcAfcgcuuscsc	232	GAAGCGUUGUUACCUGU	245

	auuL96	6		0	GAAUU	4
AD-520098.2	gsusuguuAfcCfUfGfuugaauu uuuL96	218 7	asAfsaaaUfuCfAfacagGfuAfacacspsc	232 1	GCGUUGUUACCUGUUGAA UUUUG	245 5
AD-75256.2	usuguuAfcCfUfGfUfugaauuu uguL96	218 8	asCfsaaaAfuUfCfaacaGfgUfaacaascsg	232 2	CGUUGUUACCUGUUGAAU UUUGU	245 6
AD-520099.3	usgsuuacCfuGfUfUfgaauuuu guuL96	218 9	asAfscaaAfaUfUfcaacAfgGfuaacasasc	232 3	GUUGUUACCUGUUGAAUU UUGUA	245 7
AD-67575.8	ususaccuGfuUfGfAfauuugu auuL96	219 0	asAfsuacAfaAfAfuucaAfcAfgguaascsa	232 4	UGUUACCUGUUGAAUUUU GUAUU	245 8
AD-520101.3	usascugUfuGfAfAfuuuugua uuuL96	219 1	asAfsauaCfaAfAfaucAfaCfagguasasc	232 5	GUUACCUGUUGAAUUUUG UAUUA	245 9
AD-67605.8	ascscuguUfgAfAfUfuuuuguau uauL96	219 2	asUfsauaAfcAfAfaauuAfaAfcaggusasa	232 6	UUACCUGUUGAAUUUUGU AUUAU	246 0
AD-520102.1	csusguugAfaUfUfUfuguauua uguL96	219 3	asCfsauaAfuAfCfaaaaUfuCfaacagspsu	232 7	ACCUGUUGAAUUUUGUAU UAUGU	246 1
AD-520103.1	gsusugaaUfuUfUfGfuauuug uguL96	219 4	asCfsacaUfaAfUfacaAfaUfucaacsasg	232 8	CUGUUGAAUUUUGUAUUA UGUGA	246 2
AD-520123.1	csasgugaGfaUfGfUfuaguaga auuL96	219 5	asAfsuucUfaCfUfaacaUfcUfcacugsasu	232 9	AUCAGUGAGAUGUUAGUA GAAUA	246 3
AD-520127.1	gsasgaugUfuAfGfUfagaauaa gcuL96	219 6	asGfscuuAfuUfCfuacuAfaCfaucucsasc	233 0	GUGAGAUGUUAGUAGAAU AAGCC	246 4
AD-520133.1	usasguagAfaUfAfAfgccuuaa aaL96	219 7	asUfsuuuAfaGfGfcuuaUfuCfuacuasasc	233 1	GUUAGUAGAAUAAGCCUU AAAAA	246 5
AD-520350.1	gscsugagAfuUfGfCfaccuuu cauL96	219 8	asUfsgaaAfuGfGfugcaAfuCfucagsusc	233 2	GAGCUGAGAUUGCACCAU UUCAU	246 6
AD-520351.1	csusgagaUfuGfCfAfcuuuuc auuL96	219 9	asAfsugaAfaUfGfgugcAfaUfcucagscsu	233 3	AGCUGAGAUUGCACCAUU UCAUU	246 7
AD-520352.2	usgsagauUfgCfAfcfcauuuca uuuL96	220 0	asAfsaugAfaAfUfggugCfaAfucucagsc	233 4	GCUGAGAUUGCACCAUUU CAUUC	246 8
AD-520354.1	asgsauugCfaCfCfAfuucauu ccuL96	220 1	asGfsgaaUfgAfAfauggUfgCfaaucuscsa	233 5	UGAGAUUGCACCAUUUCA UCCA	246 9
AD-520391.1	asascaaaAfuAfAfUfcuagugu gcuL96	220 2	asGfscacAfcUfAfgauuAfuUfuuguusus u	233 6	AAAACAAAUAUCUAGU GUGCA	247 0
AD-520393.1	csasaaauAfaUfCfUfagugugca	220	asCfsugcAfcAfCfuagaUfuAfuuuugsusu	233	AACAAAUAUCUAGUGU	247

	guL96	3		7	GCAGG	1
AD-520467.2	ususgaacCfuGfGfCfuauuuu cuuL96	220 4	asAfgaaAfaUfAfgccAfgGfuucaasgsu	233 8	ACUUGAACCUGGCUUAUU UUCUG	247 2
AD-520481.1	csascaugGfuCfAfGfugaguuu cuuL96	220 5	asAfgaaAfcUfCfacugAfcCfaugugsgs	233 9	CCCACAUGGUCAGUGAGU UUCUC	247 3



Таблица 34. Скрининг однократной дозы (нацеленной на PNPLA3) в клетках Нер3В (SD-стандартное отклонение)

Дуплекс	50 нМ		10 нМ		1 нМ		0.1 нМ	
	Средне е	SD	Средне е	SD	Средне е	SD	Средне е	SD
AD-518658.1	42.9476 6	12.4179 2	64.8253 6	23.8520 9	100.742 8	19.4093 7	93.0498 9	10.43 198
AD-518707.1	55.6228 4	10.2753 5	71.9399 6	7.14206 5	105.631 3	6.80951 7	101.745 8	24.26 104
AD-518708.1	69.7523 6	17.4307	65.4396 1	13.4346 5	116.968 5	10.6233 4	108.808 4	20.02 657
AD-518709.1	50.3140 4	5.65272 6	47.3224	5.14742 2	84.4024 8	16.0795 1	103.335 4	20.86 118
AD-518722.1	69.9280 1	9.59849 1	50.6688	17.8235	95.2243 2	19.2175 6	96.1180 6	12.44 369
AD-518789.1	32.5375 8	5.59367 5	32.7707 5	4.05489 1	50.7123 3	7.30601 8	65.3374 6	3.716 173
AD-518791.1	33.3748 3	4.05942 4	42.0599 8	3.44741 2	84.6491 6	8.21595 9	78.2686 3	11.97 385
AD-518792.1	43.2035 7	13.5447 7	55.5244 3	3.32202 4	87.8594 2	9.67818 7	75.6431 3	15.39 78
AD-518794.1	48.3277 4	13.8068 9	73.9973	15.1083 6	95.0843 5	15.9357 9	94.333	19.92 082
AD-518800.1	69.6224 3	3.75495 6	78.0049 8	8.90559 1	126.524 8	12.0781 9	87.1011 6	4.495 733
AD-518827.1	66.8497 6	1.87091	64.0556 5	7.82474 8	109.302 6	15.1989 8	122.029 5	26.52 146
AD-518829.1	95.0517	11.7557 8	91.4726 1	5.65656 4	127.329 5	25.9640 8	123.195 3	22.12 334
AD-518831.2	54.4440 6	8.79663 3	55.5670 3	8.59253 7	75.1085 5	12.0553 3	94.4253 4	11.73 385
AD-518832.2	72.2441 6	13.6624 1	62.7982 7	10.5501 6	88.3089 2	15.8064 9	99.7926 9	13.66 623
AD-518857.1	47.2644 2	8.72365	39.3513 7	6.08391 1	68.1639	8.1472	85.2971 6	11.93 514
AD-518921.2	67.4717 9	23.7303 5	66.3153 5	9.43730 7	96.3476 6	15.7165 6	71.6363 7	13.82 891
AD-518922.2	42.1592 7	11.1349 2	54.5504 8	17.9236 2	86.5895 6	13.0116 2	98.8985 3	6.354 892
AD-518923.2	41.7079	3.94923 8	46.7206	9.02629 8	58.0438 4	5.89911 3	70.6114 8	5.844 163
AD-518924.2	59.3240 9	12.3552 2	66.4277 2	17.2608	93.4955 1	4.35871 5	101.913 8	20.19 513
AD-518925.2	80.4979 3	11.4808 1	79.8211 3	8.07191 9	85.6524 6	9.87835	107.603 7	11.50 751
AD-518967.1	65.0174 7	7.98344 2	60.8923 6	9.69042 1	68.5645 9	5.70742 8	96.1736 6	15.85 213
AD-518968.1	61.4298 9	4.83208 2	63.1583 4	7.35798	71.6180 3	10.4465	102.544 9	13.47 582
AD-	86.4312	10.5927	99.1541	7.86163	106.585	27.6298	94.7948	4.274

518976.1	2	4	3	9	2	4	3	9
AD-518977.1	97.0006 8	21.9291 9	78.9624 1	17.5366 3	92.0453 1	9.77487 3	76.3665 3	9.779 583
AD-518978.1	52.3727 8	11.6416 2	93.2018 2	8.32211 6	108.637 2	2.25339	105.309	14.97 478
AD-518979.1	66.1580 3	16.3830 1	83.5339 7	26.1473 8	115.762 7	17.2414 1	91.0050 6	20.14 569
AD-518980.2	102.894 9	13.6025 9	114.919	22.7505 7	101.702 8	16.9385 5	137.289 6	13.75 517
AD-519043.1	52.2702 2	1.56581 5	65.3056 6	6.98557 6	99.6938 3	10.6579 2	118.623 9	13.86 267
AD-519340.1	50.0244 9	3.16438 7	59.5359 4	7.08738 5	83.1326 9	17.5559 5	104.472 1	8.587 117
AD-519341.1	56.5467	4.79048 2	71.1717 7	4.95980 2	89.6235 7	8.90525 4	106.191 8	6.972 196
AD-519342.1	40.3418 5	2.27254 4	51.3861	5.87696 7	80.0912 5	14.5267 9	95.3607 8	12.45 925
AD-519343.1	25.5469 8	3.00203	27.7800 9	9.32524 6	44.8205 8	9.65901	84.7071 7	12.42 313
AD-519344.1	30.8197 4	6.32408 3	42.9124 2	10.1455	63.9938 6	13.2631 7	70.1159 5	5.616 455
AD-519349.1	25.6430 1	4.68512 7	35.1394 3	10.3984 3	49.6449	7.72409 2	63.0249	16.56 877
AD-519350.1	25.3743 7	5.10621 3	33.4245 3	7.47521 8	48.3619 6	8.19634 7	77.7858 7	9.513 747
AD-519477.1	55.1523 3	1.53307	58.8249 8	1.17607 2	86.5420 9	11.2317 5	129.892 9	22.37 189
AD-519596.1	49.3279 9	7.79499 4	66.3492 7	8.44997 4	85.5940 7	10.7555 7	122.610 9	21.97 7
AD-519622.1	72.3127 8	7.77303	83.8039 6	3.23631 9	89.7219 1	20.4289 1	101.625 3	16.21 37
AD-519666.1	58.9922 3	9.17468 7	60.9226 6	2.27999 7	62.2453 5	8.84617 6	84.6083 1	9.404 301
AD-519667.1	39.0308 3	10.1372 3	32.1322 5	3.18272 4	54.2808 7	9.09191 2	63.6074 3	16.76 734
AD-519668.1	39.2822 7	7.78336 8	52.5274 6	15.9776 4	90.3816 1	8.50758 7	83.2026 1	10.42 693
AD-519669.1	56.7973 5	2.77350 5	62.0096 4	8.54995	91.8777 4	16.3117 3	102.723 3	30.30 425
AD-519670.1	63.1806 9	13.1207 6	66.4645 5	5.74691 8	74.1894 1	25.3362 3	115.169 2	6.864 002
AD-519671.1	62.0882 5	6.61974 7	77.2329 7	14.7072 7	76.3878 7	12.4203	107.857 2	12.53 719
AD-519672.1	74.1520 1	10.1273 4	91.9044 2	7.78591 8	94.9402 3	10.0355 1	117.920 9	5.077 82
AD-519691.1	45.7187	10.1941 3	61.8665 6	16.2476 2	81.9991 4	12.0399 6	85.7280 8	10.46 489
AD-519692.1	69.4933 5	11.2789 9	75.2756 9	10.2537 4	110.613	15.8818 1	105.271 5	10.10 224
AD-	54.3256	9.36431	65.1812	12.4370	77.7520	7.34120	114.935	19.24

519693.1	2	8	6	3	8	1	6	612
AD-519694.1	56.3142 8	7.48722 4	63.0483 6	4.47575	79.4272	19.2165 6	105.472 6	30.78 601
AD-519696.1	80.1407 3	4.96357 6	90.4529	7.23486 6	106.729 1	12.3368 5	116.239 4	17.57 21
AD-67554.6	32.5344	2.78543 3	41.8385 7	6.04173 9	39.8667 3	4.46088 3	75.9744 8	27.32 283
AD-519752.2	43.3407 2	3.12780 6	51.0367 9	8.91744 2	46.8775 2	5.76483 1	80.9258 4	12.17 422
AD-519753.2	25.9619 9	5.06747 2	37.4514 9	3.14794 1	48.7631 2	12.1361	55.4616 3	9.983 352
AD-519754.8	50.7299 6	13.3166 9	61.0787 6	5.56202	89.8863 1	16.0532 2	109.806 2	23.17 114
AD-519755.4	51.5895 6	5.47384 4	52.5109 8	4.43873 3	63.1874 7	6.56683 3	81.2701 8	14.70 514
AD-519759.2	63.6502 8	3.96747 6	73.1278 5	11.9606 4	102.237 6	7.18597 6	116.237 5	25.02 045
AD-519760.2	62.0069 3	15.4124 9	51.2810 9	5.82068 5	69.8173 7	16.4066 1	82.3772 7	14.72 109
AD-519761.2	53.7368 8	3.88752 3	57.0282 2	9.22889	64.5972 3	7.70678 9	105.704 2	11.06 913
AD-519766.2	50.2122 1	9.51920 7	66.1049 5	5.48717 3	88.6454 5	15.7119 8	106.067 5	7.998 775
AD-519773.1	29.8890 8	3.29981 2	34.5584 4	5.78904 8	44.3585 9	3.29710 6	75.3848 7	19.86 745
AD-519776.1	33.5636 1	9.14710 8	44.8736 4	11.4368 5	62.6316 1	7.74507 3	75.5364 1	27.11 615
AD-519777.1	58.7854 8	20.2789 8	72.5594	11.2437 8	106.903 6	12.1588 6	121.068 2	15.67 886
AD-519779.1	60.6597 3	4.34663 3	68.9063 9	5.48595 9	96.3813 3	14.7764 9	99.2470 1	11.64 262
AD-519809.1	51.3496 8	4.70846	62.5966 9	11.5038	85.9988 3	10.7616 9	117.981 9	28.94 899
AD-519810.1	52.7796 6	4.81209 8	58.8596 9	11.5346 2	75.0421 7	15.4875 2	96.0431 5	9.024 712
AD-519811.1	41.8307 4	5.57001 3	62.5446 8	6.63609 5	68.8584 3	4.51547 3	96.2560 3	13.47 886
AD-519814.1	43.6037	4.66622 8	51.4058 3	5.18403 6	70.3046 5	6.64907 5	112.061 5	7.600 643
AD-519820.1	35.4683 6	5.78724 3	44.9795 4	3.35921 6	75.8173 8	12.6770 8	83.9935 8	7.381 867
AD-519821.1	30.7027 7	3.62287	39.0070 5	5.19344 8	71.7296 4	5.90817	52.4237 4	2.717 107
AD-519822.1	24.0906 5	3.39270 1	42.9950 2	11.2373 4	79.0364 3	19.7130 5	101.188 9	15.16 909
AD-519823.1	53.1240 6	7.89868 7	54.0371 9	10.4308 3	85.0965 3	22.1946 6	101.881 8	16.35 143
AD-519826.1	42.8573 1	2.28687 5	51.9753 1	10.7915 1	81.2513 3	8.59057	104.720 9	9.680 307
AD-	79.3838	3.13229	88.4332	15.2978	103.171	8.05164	97.4634	10.30

519827.1	9		2	9		9	6	878
AD-519828.3	37.6623 9	5.17373	52.1730 4	6.70921 6	64.2360 9	3.99967 7	99.7856 4	16.62 182
AD-519830.1	47.1281 5	8.03164 6	59.1494 5	9.48778 4	82.0088 9	18.9836 2	89.3052 6	6.139 86
AD-519832.1	34.9134 1	4.74904 8	55.7410 8	3.76999 2	71.5287 1	4.73843 5	89.7728	8.801 833
AD-519887.1	32.1596 6	9.58332	43.3805 7	8.76522 6	60.8241 3	30.0721 3	72.7989 9	10.84 883
AD-519888.1	54.5339 5	11.2072 5	71.7106 4	13.2849	120.515 9	24.5416 3	105.123 5	2.614 384
AD-519889.1	57.8079 5	12.2551 5	66.4004 3	6.48015 4	114.747 2	10.0608 2	111.287 1	10.37 692
AD-519890.1	71.7784 3	5.50430 3	89.0656 4	9.31191 8	114.886 9	22.1195 6	122.638 1	21.95 622
AD-519929.1	51.2441 1	4.48236 7	57.1428 7	10.9567	83.6991 9	13.5228 9	93.0157 9	7.833 971
AD-519931.1	50.3064 4	3.56686	62.0215 1	3.37504 4	83.3102 4	5.45763 1	102.688 3	5.397 906
AD-519932.1	31.4461 4	11.9981 9	45.5958 8	11.7323 8	67.6784	21.5426 8	102.453 9	36.79 452
AD-519933.1	32.8492 3	3.17581 7	50.0387 2	9.14682 5	72.2142	5.83492 7	69.5628 6	13.82 901
AD-519935.2	23.1991 6	5.45960 4	34.5712 5	4.26775 6	52.3318 2	7.46196 4	52.5153 1	2.774 906
AD-519942.1	33.4306 9	7.46272 4	53.4724 6	9.25736 7	90.5354 1	13.3905 5	99.7139 4	8.678 145
AD-520005.1	54.8790 7	8.87350 1	72.1408 7	12.5638 4	111.616 4	14.6778 7	106.269 1	14.61 877
AD-520006.1	24.0471 9	2.37652 7	39.3258 1	3.47019 5	76.8341 4	16.3353 9	98.3105 9	15.60 44
AD-520007.1	16.0072	2.89670 6	28.5285 4	4.01398 8	56.3501 1	5.72095 9	71.2466 5	3.904 088
AD-520008.1	70.5424 3	7.35764 5	61.4024 7	10.0634	76.1269 6	10.8282	81.7351 4	12.70 165
AD-520011.1	61.3467 7	18.8376 5	55.7608 7	8.16551 4	81.5772 5	16.0068 1	75.3319	5.415 098
AD-520020.1	56.7307 6	8.46619 5	53.8493 6	9.58588	85.8152 5	20.3551 9	70.2745 9	15.07 749
AD-520021.1	58.0594 2	7.51022 4	49.3573	6.03950 4	82.0494 4	15.8905 4	85.3901 2	20.28 745
AD-520022.1	60.3336 4	4.30197 3	45.6306 1	6.28066 2	81.1915 5	15.9562 2	85.0976 8	18.42 796
AD-520023.1	53.1275	5.84040 7	51.0705 7	10.9716 7	82.5480 9	4.39674 2	80.6571 1	10.21 667
AD-520024.1	37.0917	8.45293 6	38.1888 4	6.75889	59.2272 7	13.7917	66.2487 6	10.41 801
AD-520025.1	36.9991 8	5.01113 9	41.6632 6	4.43567 9	55.2297 4	9.67651 5	61.5233	10.29 043
AD-	50.7444	16.9092	55.1351	15.8291	69.3480	9.6233	68.2478	8.182

520034.1	7	7	2	1	9		7	789
AD-520035.3	47.6849 7	13.2744	41.7285 1	3.40254 7	79.7865 4	18.5766 5	66.6716 2	8.660 544
AD-520036.1	62.4681 6	8.27082 8	50.7463 7	8.32620 1	76.4631 3	11.9596 7	92.9379 5	9.492 514
AD-520037.1	56.5259	8.81602 8	50.2115 6	9.11904 5	81.8312	14.2877	85.9026 7	13.16 231
AD-520038.1	51.7538 5	18.5701 3	34.0631 3	8.26120 7	56.8682 3	7.90172 5	81.7710 6	3.523 512
AD-520053.1	41.7755 9	8.86700 3	41.6209 6	19.7745 7	63.1489 4	8.57688	65.0597	2.993 574
AD-520060.3	44.6821 9	8.42471 3	37.2625 7	7.03542 3	59.5305 5	7.90894 2	79.8500 2	27.59 914
AD-520061.3	28.6780 8	4.38103 4	33.9645 3	1.79867	65.3552 7	12.6970 4	52.5427 3	8.841 387
AD-520064.5	48.0494 4	8.87246 1	44.1364 8	11.7003 9	71.2488 9	12.8944 1	83.5380 6	16.61 364
AD-520065.4	66.2306 7	11.5093 1	54.4212 3	9.98186 8	65.499	6.58263 1	95.3367 9	24.57 588
AD-520066.2	95.6531 2	47.6802 3	67.2366 5	3.84985 1	79.2281 7	13.4242	92.7217	32.33 753
AD-520067.3	105.137 5	37.5751 4	43.6723 5	7.12612 4	52.7589 2	4.10231 3	101.113 3	15.14 941
AD-75289.4	56.2261 8	10.1996 9	62.1878 9	16.4764 3	68.0905 2	3.20629	96.8037 4	10.91 438
AD-520068.3	70.9149 5	2.70444 5	53.8426 8	7.74444 3	78.7737 5	10.06	93.7892 1	4.586 384
AD-520069.3	39.7811 6	11.9299 2	49.9841 6	7.24608 2	73.4902 9	10.7709	72.8881 5	20.82 402
AD-520087.1	68.9819 1	8.45989 6	76.0717 3	15.3179 7	104.445 7	13.2246 2	113.874 3	43.90 17
AD-520095.1	81.6975 7	9.80711 2	82.5607 6	31.2848 7	96.6369 8	22.7399 4	86.2961 1	9.239 682
AD-520096.1	64.9029 7	1.93648 1	73.6898 8	26.5900 6	77.9223 6	9.63501 3	96.0330 1	15.61 368
AD-520098.2	112.056	49.2643 5	72.7562 7	13.5610 7	71.4199 8	14.0105 2	71.5998 6	6.379 803
AD-75256.2	75.7961 6	8.73734 6	74.3352 1	23.0181 5	85.3429 6	16.7219 1	98.8766 4	15.70 082
AD-520099.3	59.0348 1	13.4331 3	48.0465 5	4.36135 2	65.4117 7	10.4964	106.485 7	12.07 129
AD-67575.8	35.9208 2	6.11951 8	52.7058 1	10.2054 9	62.6797 5	14.5029 4	70.7362 4	4.135 402
AD-520101.3	58.9907 3	10.6719 9	73.2889 6	30.8162 1	93.8017 2	7.60828 7	92.6562	21.29 585
AD-67605.8	59.3283 6	23.5125 3	62.0838 2	10.4510 8	90.1155 5	23.8540 1	81.3988 9	14.06 351
AD-520102.1	75.8701 3	7.61923 6	96.8660 6	25.4772 9	86.9272 4	3.92714 3	93.4537 9	4.342 059
AD-	82.8295	7.72637	89.3875	17.1354	98.8420	10.3909	97.0703	15.12

520103.1	3	2	3	8	2	5	2	284
AD-520123.1	102.897 2	19.3969	74.9593	9.43615 8	77.0440 1	6.79224 8	92.6799 4	8.254 85
AD-520127.1	73.1011 9	23.1491	97.1521 6	30.8985 6	91.2993 8	7.71837 8	105.228 2	19.25 022
AD-520133.1	36.1541	6.39188 3	67.1586 3	24.0854	62.0632 6	14.5740 1	69.3185	9.301 314
AD-520350.1	58.8799 9	14.5913 6	90.8439 7	18.6808 7	80.5009 2	1.86219 1	82.7694 5	25.04 629
AD-520351.1	71.2630 3	7.08802 5	76.5469 9	6.32089 9	137.938 3	34.5913 7	97.8544 7	11.56 826
AD-520352.2	85.4270 7	13.8464 4	90.4238 9	8.58090 8	107.621 6	16.5647 5	107.883	10.17 883
AD-520354.1	95.7220 4	19.8258 9	76.6899 1	4.16021 3	82.1366 8	14.7316 3	129.704 9	24.29 14
AD-520391.1	129.611	19.8414 7	123.264 9	30.6421 7	84.4484 4	16.4324 9	104.851 8	6.691 812
AD-520393.1	102.369 6	22.0114	108.367	33.9064 6	82.1320 1	9.44007 9	108.425 8	13.13 794
AD-520467.2	57.0004 9	5.90521 8	65.5032 9	11.0350 2	58.1784 3	10.0720 5	93.3649 8	19.27 898
AD-520481.1	69.5520 6	1.60701 7	75.3783 5	8.65766 9	70.7340 5	11.6782 6	98.4639 6	27.39 758

**Таблица 35. Скрининг однократной дозы (нацеленной на PNPLA3) в первичных гепатоцитах яванского макака (PCH) (SD-стандартное отклонение)**

Дуплекс	50 нМ		10 нМ		1 нМ		0.1 нМ	
	Средне е	SD	Средне е	SD	Средне е	SD	Средне е	SD
AD-518658.1	42.9476 6	12.4179 2	107.249 9	25.9205 4	108.421 2	13.0952 1	111.239 5	18.4900 3
AD-518707.1	55.6228 4	10.2753 5	65.3168 8	10.7427 5	87.5189 4	4.68076 8	97.5565 2	8.78966 7
AD-518708.1	69.7523 6	17.4307	82.0746 2	7.02472 4	101.064 1	5.64843 1	102.451 1	6.75458 7
AD-518709.1	50.3140 4	5.65272 6	31.5603 5	2.22994 6	53.0134 4	6.56675 9	90.3252 5	6.88911
AD-518722.1	69.9280 1	9.59849 1	73.5628 4	23.2271 8	87.7264 6	10.6073 9	99.9427 9	0.39949 7
AD-518789.1	32.5375 8	5.59367 5	99.3493	5.93406 9	108.653 4	5.01072 2	102.112 7	7.12465 4
AD-518791.1	33.3748 3	4.05942 4	108.364 6	7.1364	106.764 7	10.988	104.953	9.84319 4
AD-518792.1	43.2035 7	13.5447 7	102.767 3	4.00610 7	113.546 6	19.3951 5	98.0412 1	5.02656 8
AD-518794.1	48.3277 4	13.8068 9	111.690 4	1.60651 9	95.3178 2	12.7478	119.972 1	18.7764
AD-518800.1	69.6224 3	3.75495 6	102.929 4	3.40420 7	100.602 4	1.31281	105.779 5	4.66237 2
AD-518827.1	66.8497 6	1.87091	43.7221 2	6.04683	62.3277 2	5.54139 9	89.3577 7	1.56639 3

AD-518829.1	95.0517	11.7557 8	46.5389 1	4.77635 2	92.5740 7	12.6644 2	97.5827 5	6.31126 1
AD-518831.2	54.4440 6	8.79663 3	33.5325 7	6.62225 3	48.3429 9	3.45377 2	77.4645 7	4.24481
AD-518832.2	72.2441 6	13.6624 1	44.9778 1	8.47571 3	76.4356 3	14.9693 4	94.3715 7	4.83051 8
AD-518857.1	47.2644 2	8.72365	25.9183 5	5.26280 5	30.4590 6	3.31053 9	50.3935 5	2.45761 1
AD-518921.2	67.4717 9	23.7303 5	38.2245 1	2.01072 6	84.3703	3.97288 3	111.778 5	8.37143 1
AD-518922.2	42.1592 7	11.1349 2	25.8729 7	4.28319 9	35.3864 5	8.00470 8	65.6809 1	2.85822 7
AD-518923.2	41.7079	3.94923 8	18.6137 5	2.56551 5	27.9520 4	7.34862 1	45.4905 9	5.68522 5
AD-518924.2	59.3240 9	12.3552 2	27.651	2.40113 1	50.4828 4	5.94551 4	93.4394 1	8.65383 2
AD-518925.2	80.4979 3	11.4808 1	63.6909 9	8.74998 7	89.3798 4	5.31991 4	108.781 9	17.4085 9
AD-518967.1	65.0174 7	7.98344 2	28.5755 5	2.48841 7	45.7973 7	11.5299 7	79.2650 3	14.6446 2
AD-518968.1	61.4298 9	4.83208 2	64.4853 3	11.4115 2	58.3508 5	12.2764 1	79.2461 2	4.76972 7
AD-518976.1	86.4312 2	10.5927 4	104.709 6	7.72396 2	117.087 2	10.0432 5	104.505 4	11.2452 5
AD-518977.1	97.0006 8	21.9291 9	102.054 6	8.08975 9	112.742 2	10.4265 1	114.256 9	13.1195 6
AD-518978.1	52.3727 8	11.6416 2	52.4852 6	2.65478 3	90.8367 3	8.68093	107.382 2	14.933
AD-518979.1	66.1580 3	16.3830 1	43.3350 9	7.85634 9	73.1886 1	5.88426 8	111.253 5	30.8410 3
AD-518980.2	102.894 9	13.6025 9	74.721	9.34061 9	102.877 6	15.689	101.165 6	11.3724 2
AD-519043.1	52.2702 2	1.56581 5	79.5664 7	13.0331 3	90.1832 4	13.0007 5	111.812 4	14.0745 9
AD-519340.1	50.0244 9	3.16438 7	33.9545 3	5.62457 2	51.6451 6	4.00685 7	89.4725 6	19.9211 9
AD-519341.1	56.5467	4.79048 2	33.8217 3	6.43942 3	49.9240 3	4.47156	79.7182 7	2.36592 4
AD-519342.1	40.3418 5	2.27254 4	22.9738 5	2.56742 4	47.1593 4	7.16437 6	82.837	10.2360 2
AD-519343.1	25.5469 8	3.00203	16.9417	2.56553 3	33.1872 6	10.3459 1	61.9948 4	12.6374
AD-519344.1	30.8197 4	6.32408 3	16.5971 3	2.80530 4	30.3711 8	9.68821 5	47.4717 6	16.7775 1
AD-519349.1	25.6430 1	4.68512 7	24.6381 7	2.5165	48.5470 4	6.28619 9	70.4842 1	10.7953 3
AD-519350.1	25.3743 7	5.10621 3	27.9572 3	4.74519 6	35.9648	12.8397 2	53.3426 5	8.70051
AD-519477.1	55.1523 3	1.53307	103.364	5.78504 4	105.284 4	8.07421 3	100.402 3	3.87363 3

AD-519596.1	49.3279 9	7.79499 4	43.3472 8	6.50334 5	85.3778 6	18.4169	95.9713 1	9.68351 6
AD-519622.1	72.3127 8	7.77303	76.0236 8	3.15011	94.8204	6.13260 3	102.121 3	2.33547 1
AD-519666.1	58.9922 3	9.17468 7	39.6257 9	7.97880 4	41.4014 3	7.59011 2	67.9031 5	15.4947 3
AD-519667.1	39.0308 3	10.1372 3	31.6461 5	5.69664 6	33.8784 7	8.43824 6	52.3122 3	5.00307 6
AD-519668.1	39.2822 7	7.78336 8	21.2465 5	5.85919 7	29.4932 1	3.96825	46.3503 4	7.12810 4
AD-519669.1	56.7973 5	2.77350 5	28.7736 3	5.31726 8	34.7154 7	3.82761 5	69.7734 1	9.29004
AD-519670.1	63.1806 9	13.1207 6	29.2631 2	4.47675 1	41.5163 5	8.63628 7	68.6600 3	7.79563
AD-519671.1	62.0882 5	6.61974 7	31.3034 9	6.06691 8	43.7339 2	3.45245 5	99.4003 5	13.8884
AD-519672.1	74.1520 1	10.1273 4	58.0523 3	10.3585 6	76.7698 9	0.66792 9	96.6546 1	3.97739 3
AD-519691.1	45.7187	10.1941 3	46.1535 2	17.9417 4	51.3424 7	11.9793 1	72.3364 4	1.68788 4
AD-519692.1	69.4933 5	11.2789 9	58.9924 9	11.3272 4	71.0205 3	4.94242 1	101.379	17.9180 4
AD-519693.1	54.3256 2	9.36431 8	30.0908	3.78858 3	44.3741 9	9.33598 6	80.6514	11.0238 3
AD-519694.1	56.3142 8	7.48722 4	30.9843 2	2.54551	63.1990 3	12.3509 2	96.9065	15.1019 7
AD-519696.1	80.1407 3	4.96357 6	43.1808 8	8.20243 8	64.8440 7	18.6962 9	83.5461	2.86894 3
AD-67554.6	32.5344	2.78543 3	22.5172 3	5.93866 2	31.2963 4	6.55766 6	44.0486 6	5.20049
AD-519752.2	43.3407 2	3.12780 6	29.9745 7	6.32733	41.2478 6	11.3136 7	60.2341 4	9.95955
AD-519753.2	25.9619 9	5.06747 2	39.3270 6	25.6105	38.4888 2	8.75169 7	64.9172 5	5.69983 1
AD-519754.8	50.7299 6	13.3166 9	27.2165 4	1.41172 1	54.1038 6	10.6625	71.8342 2	7.26276 2
AD-519755.4	51.5895 6	5.47384 4	29.9682 4	9.17798 3	28.1882 9	2.58624 8	52.7934 6	6.60669 7
AD-519759.2	63.6502 8	3.96747 6	29.8088 9	10.4715 9	56.6665	3.43744 5	86.0839 1	12.8368 7
AD-519760.2	62.0069 3	15.4124 9	27.5675 2	3.85463 3	32.4373 6	4.19898 6	55.8912 7	7.16597 9
AD-519761.2	53.7368 8	3.88752 3	28.4585 3	4.81840 3	34.3774	1.45040 2	62.3084 3	17.8052 3
AD-519766.2	50.2122 1	9.51920 7	36.3314 1	4.45399 5	58.6345	8.81037 4	83.3799 2	5.95169 1
AD-519773.1	29.8890 8	3.29981 2	30.4917 8	2.19034 3	34.5564 2	5.01242 4	54.0685	3.92445
AD-519776.1	33.5636 1	9.14710 8	63.0893 3	15.8987	66.1219 8	6.09034 9	88.8878 8	0.92898 2



AD-519777.1	58.7854 8	20.2789 8	74.5179 4	17.4418 2	97.8086 3	5.93003	98.3545 8	10.3376 1
AD-519779.1	60.6597 3	4.34663 3	93.1475 6	16.5241 1	91.6263 2	14.2908 3	92.4640 8	5.67211 1
AD-519809.1	51.3496 8	4.70846	31.0245 4	4.75138 8	44.2285 5	9.42411	69.0995 2	9.93871 6
AD-519810.1	52.7796 6	4.81209 8	37.1843 3	11.0106 9	50.9542 2	11.3056 6	76.5475 5	17.2432 6
AD-519811.1	41.8307 4	5.57001 3	55.9547 3	19.5274 8	52.5523 2	4.13069 4	79.8717 1	11.5627
AD-519814.1	43.6037	4.66622 8	80.6560 1	11.9730 5	87.8224 9	9.56365 9	90.4795 7	3.16459 6
AD-519820.1	35.4683 6	5.78724 3	49.5576 3	10.9215 9	66.9042 4	11.2734 9	80.7228	6.51526 1
AD-519821.1	30.7027 7	3.62287	61.3839 2	4.11211 8	86.7722 9	7.71842 9	89.7490 7	4.66401 7
AD-519822.1	24.0906 5	3.39270 1	27.8375	11.2493 5	45.2711 2	14.8553 9	62.8648 1	9.88856
AD-519823.1	53.1240 6	7.89868 7	40.6447 3	18.3133	45.9021 4	13.7214 5	71.4300 3	18.0691 6
AD-519826.1	42.8573 1	2.28687 5	47.8548 2	5.87137 6	57.4806 8	5.57885 8	83.6973 6	3.16211 8
AD-519827.1	79.3838 9	3.13229	40.3443 6	4.54403 5	84.1747	8.54672 8	91.2886 2	3.91196 7
AD-519828.3	37.6623 9	5.17373	43.1504 3	3.72300 5	56.1368 9	4.54468 3	78.2917 8	4.68741
AD-519830.1	47.1281 5	8.03164 6	48.0797 7	17.0743 5	61.6137 1	6.12148	90.1255	12.7125 9
AD-519832.1	34.9134 1	4.74904 8	64.8656 8	17.4975 3	68.3067 8	3.62653 8	91.3342 6	13.5946 7
AD-519887.1	32.1596 6	9.58332	65.4801 2	7.89454 7	72.8491 3	4.3847	92.6078 4	5.19767 8
AD-519888.1	54.5339 5	11.2072 5	31.5092 2	3.11048 8	91.6996 9	3.18779 4	103.071	9.79360 2
AD-519889.1	57.8079 5	12.2551 5	51.3547 7	5.07629 1	76.7891 9	7.73923 7	95.4632 2	11.5216 5
AD-519890.1	71.7784 3	5.50430 3	64.796	11.4064 4	87.8986 7	15.0868	91.9063 4	3.38996 5
AD-519929.1	51.2441 1	4.48236 7	39.8065 5	22.3568	46.7082 5	12.8106 9	67.2406 8	6.3593
AD-519931.1	50.3064 4	3.56686	35.7647 8	6.18468 5	39.3523	9.95883 7	59.5307 6	3.38332 4
AD-519932.1	31.4461 4	11.9981 9	32.3795 1	19.3500 7	37.6227 9	5.87838 9	55.2123 2	5.64296 7
AD-519933.1	32.8492 3	3.17581 7	32.4834 7	7.87957	71.1685 2	27.0411	78.6858 1	4.36506 1
AD-519935.2	23.1991 6	5.45960 4	31.9532 2	8.55042 5	40.7194 6	8.76738 7	70.2049 9	7.92004 2
AD-519942.1	33.4306 9	7.46272 4	50.8111 8	9.66281 5	71.1090 3	10.5558 8	83.1399 9	6.80414 4

AD-520005.1	54.8790 7	8.87350 1	69.2795 5	6.11595 1	85.0700 6	6.62029 2	88.0046	3.06744 5
AD-520006.1	24.0471 9	2.37652 7	98.1206 6	13.8079	81.4189	5.35930 4	87.9702 6	6.17984 5
AD-520007.1	16.0072	2.89670 6	65.2408	12.4550 6	76.7504 4	17.4263 1	89.2661 3	7.32134 7
AD-520008.1	70.5424 3	7.35764 5	90.5242 2	5.62911 1	112.855 5	12.1806 7	110.420 7	28.5502
AD-520011.1	61.3467 7	18.8376 5	96.9186 8	10.1015 6	98.1697 7	15.5554	112.861 8	30.0517 8
AD-520020.1	56.7307 6	8.46619 5	47.0132 2	4.27244 9	58.8683 2	6.76992 4	90.4884 3	16.9506 8
AD-520021.1	58.0594 2	7.51022 4	25.2806 8	3.22117 4	43.1439 1	3.70049 5	77.3429 1	4.43031
AD-520022.1	60.3336 4	4.30197 3	72.8312 7	2.80379 4	84.0174 8	6.44484 8	91.7261 8	5.27395 8
AD-520023.1	53.1275	5.84040 7	73.4579 1	2.58784 7	93.0434 3	2.06357 7	109.938 5	8.26838 2
AD-520024.1	37.0917	8.45293 6	64.4773 6	6.18978 3	71.6368 1	2.31109 7	101.226 5	11.3285
AD-520025.1	36.9991 8	5.01113 9	101.380 5	10.4641 9	99.3633 6	1.17884 5	125.105 9	22.3985 4
AD-520034.1	50.7444 7	16.9092 7	101.150 2	6.87276 9	102.561	8.05565 5	112.446 4	30.3173 5
AD-520035.3	47.6849 7	13.2744	93.7855 5	3.13824 4	100.117 6	8.06161	98.2082 6	14.0637 4
AD-520036.1	62.4681 6	8.27082 8	99.5061 8	4.35277	107.402 9	6.91703 9	89.7906 4	10.8726 7
AD-520037.1	56.5259	8.81602 8	82.5455 6	13.3758 6	109.924 6	4.24503 9	96.2990 2	5.86326 1
AD-520038.1	51.7538 5	18.5701 3	102.839 2	8.31702 1	95.4829 7	1.33282	93.4570 5	10.2724 4
AD-520053.1	41.7755 9	8.86700 3	23.5973 2	7.62573 7	27.5288 2	4.75974	59.1699 5	5.39624 8
AD-520060.3	44.6821 9	8.42471 3	16.8034	1.66067 3	28.0170 5	2.27675 1	51.331	2.93998 9
AD-520061.3	28.6780 8	4.38103 4	13.2987 4	1.85401 6	37.2129 1	13.3095 4	52.8848 8	7.31816 3
AD-520064.5	48.0494 4	8.87246 1	16.3475 4	4.44381 7	26.3224 4	4.7663	59.6367 8	12.4941 2
AD-520065.4	66.2306 7	11.5093 1	16.5161 5	1.55502 3	22.6798 5	3.27324 2	50.3179 9	14.3262 3
AD-520066.2	95.6531 2	47.6802 3	18.8218 6	1.94207 8	24.6716 1	0.48992	39.6691 1	3.81514 1
AD-520067.3	105.137 5	37.5751 4	16.2407 5	2.26603 7	21.7748	1.51769 5	47.7954 5	2.38224 4
AD-75289.4	56.2261 8	10.1996 9	24.5412 7	12.6009 1	39.5338 9	3.94839 4	64.8349 7	3.07094 2
AD-520068.3	70.9149 5	2.70444 5	27.7888 7	2.16869 2	40.1232 1	8.96017 5	74.079	7.77718 5

AD-520069.3	39.7811 6	11.9299 2	26.4651 4	3.71246 5	36.3796 7	5.03883	69.8240 6	8.52398
AD-520087.1	68.9819 1	8.45989 6	50.2066 3	11.4466 1	81.3527 9	14.6356 5	94.6396 4	15.2365 2
AD-520095.1	81.6975 7	9.80711 2	32.2698	2.79685	40.6927 2	3.69408	69.1957 3	1.07051 6
AD-520096.1	64.9029 7	1.93648 1	25.0083 4	2.58041 1	37.0523 8	5.07003 3	58.7605 3	3.33269 9
AD-520098.2	112.056	49.2643 5	28.8869 4	6.46456 3	34.3380 8	2.15756 2	62.1349	10.3857 6
AD-75256.2	75.7961 6	8.73734 6	47.6544 6	11.9068 9	64.1722 5	3.64467 4	87.8540 4	8.07026 4
AD-520099.3	59.0348 1	13.4331 3	25.2906 2	8.51502 6	37.2978 5	1.90083 2	72.7534 4	8.63057 9
AD-67575.8	35.9208 2	6.11951 8	32.1524	7.33074 1	32.3553 8	4.75624 9	69.6096 5	8.47732 4
AD-520101.3	58.9907 3	10.6719 9	28.9305 4	6.61911	36.3512 8	10.7913 5	84.7804 4	31.1648 2
AD-67605.8	59.3283 6	23.5125 3	23.7045 6	2.00817	37.3527 6	3.89933 4	64.8794 5	10.1001 3
AD-520102.1	75.8701 3	7.61923 6	41.3964 1	13.0112 2	61.6746 3	5.65923 5	87.9087 2	6.46654 7
AD-520103.1	82.8295 3	7.72637 2	80.6146 2	16.0474 6	90.1048 5	4.64509 1	84.6030 4	6.03245 6
AD-520123.1	102.897 2	19.3969	23.2895 8	3.60817 6	33.1825	0.75798 4	58.4954 9	5.60907 4
AD-520127.1	73.1011 9	23.1491	34.4150 8	3.00211 6	66.9624 5	3.83570 3	89.71	5.77492 9
AD-520133.1	36.1541	6.39188 3	27.1825 9	3.05956 8	33.9256 3	6.05057 6	62.9785 8	8.29692 9
AD-520350.1	58.8799 9	14.5913 6	100.835 7	1.82604 7	102.060 6	4.81680 9	103.382 8	15.0659 5
AD-520351.1	71.2630 3	7.08802 5	110.277 8	18.7294 6	96.7841 5	8.78605 3	98.9098 7	17.2502 7
AD-520352.2	85.4270 7	13.8464 4	90.1595 5	6.92661 7	99.0847 5	1.97104 8	84.1835 4	2.66040 2
AD-520354.1	95.7220 4	19.8258 9	98.0246 6	11.3606 9	101.427 4	6.45240 7	97.1145 2	14.8170 8
AD-520391.1	129.611	19.8414 7	99.2750 3	7.12102	100.53	8.93724 6	89.1804 5	4.17185 8
AD-520393.1	102.369 6	22.0114	109.515 8	13.7420 9	100.526 1	11.2259 6	95.7887 1	5.49662 8
AD-520467.2	57.0004 9	5.90521 8	31.9145 9	2.38021 9	56.3110 4	4.40197 8	78.9832 8	3.37731 8
AD-520481.1	69.5520 6	1.60701 7	93.4841 3	3.90882	100.765	2.31341 5	105.474 2	15.4760 9

**Пример 5. Анализ зависимости «структура-активность»**

На основании анализов *in vitro* в Примере 4 проводили анализ структурно-активных отношений (SAR). В частности, были разработаны, синтезированы и

исследованы дополнительные дуплексы *in vitro* и *in vivo*.

siРНК конструировали, синтезировали и получали с использованием способов, известных в данной области и описанных выше. Анализы скрининга *in vitro* в клетках Нер3В и РСН с данными siРНК проводили, как описано выше.

Подробные списки немодифицированных нуклеотидных последовательностей смысловой и антисмысловой цепей PNPLA3 показаны в Таблице 36. Подробные списки модифицированных нуклеотидных последовательностей смысловой и антисмысловой цепей PNPLA3 показаны в Таблице 37.

Результаты анализа трансфекции средства на основе dsРНКми, перечисленными в Таблицах 36 и 37, в клетках Нер3В показаны в Таблице 38. Результаты анализов трансфекции агентами dsРНК, перечисленными в Таблицах 36 и 37, первичных гепатоцитов яванского макака (РСН) показаны в Таблице 39.

Таблица 36. Немодифицированные смысловые и антисмысловые последовательности средств на основе дсРНК PNPLA3

Название дуплекса	Смысловая последовательность от 5' до 3'	SEQ ID NO:	Позиции NM_025225.2	Антисмысловая последовательность от 5' до 3'	SEQ ID NO:	Позиции NM_025225.2
AD-519341.2	GCUACCCAUUAGGAUAAU GUU	2474	1208-1228	AACAUUAUCCUAAUGGGUAG CAA	2558	1206-1228
AD-519342.2	CUACCCAUUAGGAUAAUG UCU	2475	1209-1229	AGACAUUAUCCUAAUGGGUA GCA	2559	1207-1229
AD-519343.2	UACCCAUUAGGAUAAUGU CUU	2476	1210-1230	AAGACAUUAUCCUAAUGGGU AGC	2560	1208-1230
AD-1010713.1	ACCCAUUAGGAUAAUGUC UUA	2477	1145-1165	UAAGACAUUAUCCUAAUGGG UAG	2561	1143-1165
AD-519345.1	CCCAUUAGGAUAAUGUCU UAU	2478	1212-1232	AUAAGACAUUAUCCUAAUGG GUA	2562	1210-1232
AD-519346.1	CCAUUAGGAUAAUGUCUU AUU	2479	1213-1233	AAUAAGACAUUAUCCUAAUG GGU	2563	1211-1233
AD-519347.1	CAUUAGGAUAAUGUCUUA UGU	2480	1214-1234	ACAUAAGACAUUAUCCUAAU GGG	2564	1212-1234
AD-1010714.1	AUUAGGAUAAUGUCUUAU GUA	2481	1149-1169	UACAUAAAGACAUUAUCCUAA UGG	2565	1147-1169
AD-1010715.1	UUAGGAUAAUGUCUUAUG UAA	2482	1150-1170	UUACAUAAAGACAUUAUCCUA AUG	2566	1148-1170
AD-519350.2	UAGGAUAAUGUCUUAUGU AAU	2483	1217-1237	AUUACAUAAAGACAUUAUCCU AAU	2567	1215-1237
AD-519351.7	AGGAUAAUGUCUUAUGUA AUU	2484	1218-1238	AAUUACAUAAAGACAUUAUCC UAA	2568	1216-1238
AD-519352.1	GGAUAAUGUCUUAUGUAA UGU	2485	1219-1239	ACAUUACAUAAAGACAUUAUC CUA	2569	1217-1239
AD-519353.1	GAUAAUGUCUUAUGUAAU GCU	2486	1220-1240	AGCAUUACAUAAAGACAUUAU CCU	2570	1218-1240
AD-519354.1	AUAAUGUCUUAUGUAAUG CUU	2487	1221-1241	AAGCAUUACAUAAAGACAUUA UCC	2571	1219-1241
AD-519355.1	UAAUGUCUUAUGUAAUGC	2488	1222-1242	ACAGCAUUACAUAAAGACAUU	2572	1220-1242

	UGU			AUC		
AD-519356.1	AAUGUCUUAUGUAAUGCUGCU	2489	1223-1243	AGCAGCAUUACAUAAGACAUAU	2573	1221-1243
AD-519357.1	AUGUCUUAUGUAAUGCUGCCU	2490	1224-1244	AGGCAGCAUUACAUAAGACAUAU	2574	1222-1244
AD-519358.1	UGUCUUAUGUAAUGCUGCCU	2491	1225-1245	AGGGCAGCAUUACAUAAGACAUAU	2575	1223-1245
AD-519359.1	GUCUUAUGUAAUGCUGCCCUU	2492	1226-1246	AAGGGCAGCAUUACAUAAGACAUAU	2576	1224-1246
AD-519360.1	UCUUAUGUAAUGCUGCCCUU	2493	1227-1247	ACAGGGCAGCAUUACAUAAGACAUAU	2577	1225-1247
AD-1010716.1	CUUAUGUAAUGCUGCCCUU	2494	1162-1182	UACAGGGCAGCAUUACAUAAGACAUAU	2578	1160-1182
AD-519745.1	CCCAGCCUCUGAGCUGAGUUU	2495	1733-1753	AAACUCAGCUCAGAGGCUGGAU	2579	1731-1753
AD-519746.1	CCAGCCUCUGAGCUGAGUUGU	2496	1734-1754	ACAACUCAGCUCAGAGGCUGGGA	2580	1732-1754
AD-519747.1	CAGCCUCUGAGCUGAGUUGGU	2497	1735-1755	ACCAACUCAGCUCAGAGGCUGGG	2581	1733-1755
AD-519748.1	AGCCUCUGAGCUGAGUUGGUU	2498	1736-1756	AACCAACUCAGCUCAGAGGCUGGG	2582	1734-1756
AD-519749.1	GCCUCUGAGCUGAGUUGGUUU	2499	1737-1757	AAACCAACUCAGCUCAGAGGCUGG	2583	1735-1757
AD-519750.1	CCUCUGAGCUGAGUUGGUUUU	2500	1738-1758	AAAACCAACUCAGCUCAGAGGCUG	2584	1736-1758
AD-1010717.1	CUCUGAGCUGAGUUGGUUUUA	2501	1673-1693	UAAAACCAACUCAGCUCAGAGGC	2585	1671-1693
AD-67554.7	UCUGAGCUGAGUUGGUUUUAU	2502	1740-1760	AUAAAACCAACUCAGCUCAGAGG	2586	1738-1760
AD-519752.3	CUGAGCUGAGUUGGUUUUAU	2503	1741-1761	AAUAAAACCAACUCAGCUCAGAGG	2587	1739-1761
AD-1010718.1	UGAGCUGAGUUGGUUUUAUA	2504	1676-1696	UCAUAAAACCAACUCAGCUCAGAG	2588	1674-1696

AD-519754.9	GAGCUGAGUUGGUUUUAU GAU	2505	1743-1763	AUCAUAAAACCAACUCAGCU CAG	2589	1741-1763
AD-75276.2	AGCUGAGUUGGUUUUAUG AAA	2506	1744-1764	UUUCAUAAAACCAACUCAGC UCA	2590	1742-1764
AD- 1010719.1	GCUGAGUUGGUUUUAUGA AAA	2507	1679-1699	UUUUCAUAAAACCAACUCAG CUC	2591	1677-1699
AD-519757.3	CUGAGUUGGUUUUAUGAA AAU	2508	1746-1766	AUUUUCAUAAAACCAACUCA GCU	2592	1744-1766
AD-519758.2	UGAGUUGGUUUUAUGAAA AGU	2509	1747-1767	ACUUUUCAUAAAACCAACUC AGC	2593	1745-1767
AD-519759.3	GAGUUGGUUUUAUGAAA GCU	2510	1748-1768	AGCUUUUCAUAAAACCAACU CAG	2594	1746-1768
AD-67549.2	AGUUGGUUUUAUGAAAAG CUA	2511	1749-1769	UAGCUUUUCAUAAAACCAAC UCA	2595	1747-1769
AD-519761.3	GUUGGUUUUAUGAAAAGC UAU	2512	1750-1770	AUAGCUUUUCAUAAAACCAA CUC	2596	1748-1770
AD-519762.2	UUGGUUUUAUGAAAAGCU AGU	2513	1751-1771	ACUAGCUUUUCAUAAAACCA ACU	2597	1749-1771
AD- 1010720.1	UGGUUUUAUGAAAAGCUA GGA	2514	1686-1706	UCCUAGCUUUUCAUAAAACC AAC	2598	1684-1706
AD-67558.2	GGUUUUUAUGAAAAGCUAG GAA	2515	1753-1773	UUCCUAGCUUUUCAUAAAAC CAA	2599	1751-1773
AD- 1010721.1	CUGCAAAGAUGAUAACCU UGA	2516	2034-2054	UCAAGGUUAUCAUCUUUGCA GAC	2600	2032-2054
AD-520009.1	UGCAAAGAUGAUAACCUU GAU	2517	2101-2121	AUCAAGGUUAUCAUCUUUGC AGA	2601	2099-2121
AD-520010.1	GCAAAGAUGAUAACCUUG ACU	2518	2102-2122	AGUCAAGGUUAUCAUCUUUG CAG	2602	2100-2122
AD- 1010722.1	CAAAGAUGAUAACCUUGA CUA	2519	2037-2057	UAGUCAAGGUUAUCAUCUUU GCA	2603	2035-2057
AD-520012.1	AAAGAUGAUAACCUUGAC UAU	2520	2104-2124	AUAGUCAAGGUUAUCAUCUU UGC	2604	2102-2124
AD-520013.1	AAGAUGAUAACCUUGACU	2521	2105-2125	AGUAGUCAAGGUUAUCAUCU	2605	2103-2125

	ACU			UUG		
AD-1010723.1	AGAUGAUAACCUUGACUA CUA	2522	2040-2060	UAGUAGUCAAGGUUAUCAUC UUU	2606	2038-2060
AD-1010724.1	GAUGAUAACCUUGACUAC UAA	2523	2041-2061	UUAGUAGUCAAGGUUAUCAU CUU	2607	2039-2061
AD-1010725.1	AUGAUAACCUUGACUACU AAA	2524	2042-2062	UUUAGUAGUCAAGGUUAUCA UCU	2608	2040-2062
AD-1010726.1	UGAUAACCUUGACUACUA AAA	2525	2043-2063	UUUUAGUAGUCAAGGUUAUC AUC	2609	2041-2063
AD-520018.7	GAUAACCUUGACUACUAA AAU	2526	2110-2130	AUUUUAGUAGUCAAGGUUAU CAU	2610	2108-2130
AD-520019.1	AUAACCUUGACUACUAAA AAU	2527	2111-2131	AUUUUUAGUAGUCAAGGUUA UCA	2611	2109-2131
AD-520020.2	UAACCUUGACUACUAAAA ACU	2528	2112-2132	AGUUUUUAGUAGUCAAGGUU AUC	2612	2110-2132
AD-520021.2	AACCUUGACUACUAAAAA CGU	2529	2113-2133	ACGUUUUUAGUAGUCAAGGU UAU	2613	2111-2133
AD-520022.2	ACCUUGACUACUAAAAAC GUU	2530	2114-2134	AACGUUUUUAGUAGUCAAGG UUA	2614	2112-2134
AD-520023.2	CCUUGACUACUAAAAACG UCU	2531	2115-2135	AGACGUUUUUAGUAGUCAAG GUU	2615	2113-2135
AD-520024.2	CUUGACUACUAAAAACGU CUU	2532	2116-2136	AAGACGUUUUUAGUAGUCA AGGU	2616	2114-2136
AD-520025.2	UUGACUACUAAAAACGUC UCU	2533	2117-2137	AGAGACGUUUUUAGUAGUCA AGG	2617	2115-2137
AD-1010727.1	UGACUACUAAAAACGUCU CCA	2534	2052-2072	UGGAGACGUUUUUAGUAGUC AAG	2618	2050-2072
AD-520027.1	GACUACUAAAAACGUCUC CAU	2535	2119-2139	AUGGAGACGUUUUUAGUAGU CAA	2619	2117-2139
AD-520028.1	ACUACUAAAAACGUCUCC AUU	2536	2120-2140	AAUGGAGACGUUUUUAGUAG UCA	2620	2118-2140
AD-520052.1	AUUUUAGAACACCUUUUU CAU	2537	2170-2190	AUGAAAAGGUGUUCUAAAA UUA	2621	2168-2190



AD-520053.2	UUUAGAACACCUUUUUC ACU	2538	2171-2191	AGUGAAAAAGGUGUUCUAAA AUU	2622	2169-2191
AD-520054.1	UUUAGAACACCUUUUUCA CCU	2539	2172-2192	AGGUGAAAAAGGUGUUCUAA AAU	2623	2170-2192
AD- 1010728.1	UUAGAACACCUUUUUCAC CUA	2540	2107-2127	UAGGUGAAAAAGGUGUUCUA AAA	2624	2105-2127
AD- 1010729.1	UAGAACACCUUUUUCACC UAA	2541	2108-2128	UUAGGUGAAAAAGGUGUUCU AAA	2625	2106-2128
AD-520057.1	AGAACACCUUUUUCACCU AAU	2542	2175-2195	AUUAGGUGAAAAAGGUGUUC UAA	2626	2173-2195
AD-520058.1	GAACACCUUUUUCACCUA ACU	2543	2176-2196	AGUUAGGUGAAAAAGGUGUU CUA	2627	2174-2196
AD- 1010730.1	AACACCUUUUUCACCUAA CUA	2544	2111-2131	UAGUUAGGUGAAAAAGGUGU UCU	2628	2109-2131
AD- 1010731.1	ACACCUUUUUCACCUAAC UAA	2545	2112-2132	UUAGUUAGGUGAAAAAGGUG UUC	2629	2110-2132
AD- 1010732.1	CACCUUUUUCACCUAACU AAA	2546	2113-2133	UUUAGUUAGGUGAAAAAGGU GUU	2630	2111-2133
AD-520062.8	ACCUUUUUCACCUAACUA AAU	2547	2180-2200	AUUUAGUUAGGUGAAAAAGG UGU	2631	2178-2200
AD-520063.4	CCUUUUUCACCUAACUAA AAU	2548	2181-2201	AUUUUAGUUAGGUGAAAAAG GUG	2632	2179-2201
AD- 1010733.1	CUUUUUCACCUAACUAAA AUA	2549	2116-2136	UAUUUUAGUUAGGUGAAAAA GGU	2633	2114-2136
AD- 1010734.1	UUUUUCACCUAACUAAAA UAA	2550	2117-2137	UUUUUUAGUUAGGUGAAAA AGG	2634	2115-2137
AD-520066.3	UUUUCACCUAACUAAAAU AAU	2551	2184-2204	AUUUUUUAGUUAGGUGAAA AAG	2635	2182-2204
AD-520067.4	UUUCACCUAACUAAAAUA AUU	2552	2185-2205	AAUUUUUUAGUUAGGUGAA AAA	2636	2183-2205
AD-75289.5	UUCACCUAACUAAAAUAA UGU	2553	2186-2206	ACAUUUUUUAGUUAGGUGA AAA	2637	2184-2206
AD-520068.4	UCACCUAACUAAAAUAAU	2554	2187-2207	AACAUUUUUUAGUUAGGUG	2638	2185-2207

	GUU			AAA		
AD-520069.4	CACCUAACUAAAAUAAUG UUU	2555	2188-2208	AAACAUUAUUUUAGUUAGGU GAA	2639	2186-2208
AD-1010735.1	ACCUAACUAAAAUAAUGU UUA	2556	2123-2143	UAAACAUUAUUUUAGUUAGG UGA	2640	2121-2143
AD-67584.6	CCU AACUAAAAUAAUGUU UAA	2557	2190-2210	UUAAACAUUAUUUUAGUUAG GUG	2641	2188-2210

**Таблица 36. Модифицированные смысловые и антисмысловые последовательности средств на основе дсРНК PNPLA3**

Название дуплекса	Смысловая последовательность от 5' до 3'	SEQ ID NO:	Антисмысловая последовательность от 5' до 3'	SEQ ID NO:	целевая последовательность мРНК	SEQ ID NO:
AD-519341.2	gscsuaccCfaUfUfAfg gauaanguuL96	2642	asAfscauUfaUfCfuaaUfgGfgu agcsasa	2726	UUGCUACCCAUUAGG AUA AUGUC	2810
AD-519342.2	csusaccAfuUfAfGfg auaangucuL96	2643	asGfsacaUfuUfUfccuaAfuGfgg uagcsa	2727	UGCUACCCAUUAGGA UAAUGUCU	2811
AD-519343.2	usasccaUfuUfGfGfa uaangucuuL96	2644	asAfsagacAfuUfAfuccuAfaUfgg guasgsc	2728	GCUACCCAUUAGGAU AAUGUCUU	2812
AD-1010713.1	ascsccauUfaGfGfAfu aangucuuaL96	2645	usAfsagaCfaUfUfauccUfaAfug ggusag	2729	CUACCCAUUAGGAUA AUGUCUUA	2813
AD-519345.1	cscscuuAfgGfAfUfa augucuuaL96	2646	asUfsaagAfcAfUfuaucCfuAfau gggsusa	2730	UACCCAUUAGGAUAA UGUCUUAU	2814
AD-519346.1	cscsauuaGfgAfUfAfa ugucuuaauL96	2647	asAfsuaaGfaCfAfuaucCfcUfaa uggsgsu	2731	ACCCAUUAGGAUAAU GUCUUAUG	2815
AD-519347.1	csasuuagGfaUfAfAfu gucuuauguL96	2648	asCfsauaAfgAfCfauuaUfcCfua augsgsg	2732	CCCAUUAGGAUAAUG UCUUAUGU	2816
AD-1010714.1	asusuaggAfuAfAfUfg ucuauguaL96	2649	usAfscauAfaGfAfcuuAfuCfcu aau sgsg	2733	CCAUUAGGAUAAUGU CUUAUGUA	2817
AD-1010715.1	ususaggaUfaAfUfGfu cuuauguaaL96	2650	usUfsacaUfaAfGfacauUfaUfcc uaasug	2734	CAUUAGGAUAAUGUC UUAUGUAA	2818
AD-519350.2	usasgauAfaUfGfUfc uuau guaaL96	2651	asUfsuacAfuAfAfgacaUfuAfuc cuasasu	2735	AUUAGGAUAAUGUCU UAUGUAAU	2819
AD-519351.7	asgsgauAfuGfUfCfu uauguaauL96	2652	asAfsuaaCfaUfAfagacAfuUfa ccusasa	2736	UUAGGAUAAUGUCU AUGUAAUG	2820

AD-519352.1	gsgsauaaUfgUfCfUfu auguaauguL96	2653	asCfsauuAfcAfUfaagaCfaUfua uccsusa	2737	UAGGAUAAUGUCUUA UGUAAUGC	2821
AD-519353.1	gsasuaauGfuCfUfUfa uguaaugcuL96	2654	asGfscauUfaCfAfuagAfcAfu aucscsu	2738	AGGAUAAUGUCUUAU GUAAUGCU	2822
AD-519354.1	asusaaugUfcUfUfAfu guaaugcuL96	2655	asAfsucaUfuAfCfauaaGfaCfau uauscsc	2739	GGAUAAUGUCUUAUG UAAUGCUG	2823
AD-519355.1	usasauguCfuUfAfUfg uaaugcuguL96	2656	asCfsagcAfuUfAfcuaaAfgAfc uuasusc	2740	GAUAAUGUCUUAUGU AAUGCUGC	2824
AD-519356.1	asasugucUfuAfUfGfu aaugcugcuL96	2657	asGfscagCfaUfUfacauAfaGfac auusasu	2741	AUAAUGUCUUAUGUA AUGCUGCC	2825
AD-519357.1	asusgucuUfaUfGfUfa augcugccuL96	2658	asGfsgcaGfcAfUfuacaUfaAfga caususa	2742	UAAUGUCUUAUGUAA UGCUGCCC	2826
AD-519358.1	usgsucuuAfuGfUfAfa ugcugcccuL96	2659	asGfsggcAfgCfAfuacAfuAfa acasusu	2743	AAUGUCUUAUGUAAU GCUGCCCU	2827
AD-519359.1	gsuscuaaUfgUfAfAfu gcugcccuL96	2660	asAfsaggCfaGfCfauuaCfaUfaa gacsasu	2744	AUGUCUUAUGUAAUG CUGCCUG	2828
AD-519360.1	uscuuauGfuAfAfUfg cugcccuL96	2661	asCfsaggGfcAfGfcuuAfcAfu agascsa	2745	UGUCUUAUGUAAUGC UGCCUGU	2829
AD-1010716.1	csusuaugUfaAfUfGfc ugcccuL96	2662	usAfsagGfgCfAfgcaUfaCfau aagsasc	2746	GUCUUAUGUAAUGCU GCCUGUA	2830
AD-519745.1	cscscagcCfuCfUfGfa gcugaguuuL96	2663	asAfsacuCfaGfCfucagAfgGfcu gggsasu	2747	AUCCAGCCUCUGAGC UGAGUUG	2831
AD-519746.1	cscsagccUfcUfGfAfg cugaguuguL96	2664	asCfsaacUfcAfGfcucaGfaGfgc uggsgsa	2748	UCCAGCCUCUGAGCU GAGUUGG	2832
AD-519747.1	csasgccuCfuGfAfGfc ugaguugguL96	2665	asCfscaaCfuCfAfgcucAfgAfgg cugsgsg	2749	CCCAGCCUCUGAGCUG AGUUGGU	2833
AD-519748.1	asgscucUfgAfGfCfu gaguugguuL96	2666	asAfsccaAfcUfCfagcuCfaGfag gcusgsg	2750	CCAGCCUCUGAGCUG AGUUGGUU	2834
AD-519749.1	gscscucuGfaGfCfUfg aguugguuL96	2667	asAfsaccAfaCfUfcagcUfcAfga ggcsusg	2751	CAGCCUCUGAGCUGA GUUGGUUU	2835
AD-519750.1	cscsucugAfgCfUfGfa guugguuuuL96	2668	asAfsaacCfaAfCfucagCfuCfaga ggscsu	2752	AGCCUCUGAGCUGAG UUGGUUUU	2836
AD-1010717.1	csuscugaGfcUfGfAfg	2669	usAfsaaaCfcAfAfcucaGfcUfca	2753	GCCUCUGAGCUGAGU	2837

	uugguuuuuL96		gagsgsc		UGGUUUUA	
AD-67554.7	uscugagCfuGfAfGfu ugguuuuuL96	2670	asUfsaaaAfcCfAfacucAfgCfuc agasgsg	2754	CCUCUGAGCUGAGUU GGUUUUUAU	2838
AD-519752.3	csusgagcUfgAfGfUfu gguuuuuL96	2671	asAfsuaaAfaCfCfaacuCfaGfcuc agsasg	2755	CUCUGAGCUGAGUUG GUUUUAUG	2839
AD-1010718.1	usgsagcuGfaGfUfUfg guuuuauL96	2672	usCfsauaAfaAfCfaacUfcAfgc ucasgsa	2756	UCUGAGCUGAGUUGG UUUUAUGA	2840
AD-519754.9	gsasgcugAfgUfUfGfg uuuuauL96	2673	asUfscuuAfaAfAfccaaCfuCfag cucsasg	2757	CUGAGCUGAGUUGGU UUUAUGAA	2841
AD-75276.2	asgscugaGfuUfGfGfu uuuuauL96	2674	usUfsucaUfaAfAfaccaAfcUfca gcuscsa	2758	UGAGCUGAGUUGGUU UUAUGAAA	2842
AD-1010719.1	gscugagUfuGfGfUfu uuuuuuL96	2675	usUfsuucAfuAfAfaaccAfaCfuc agcsusc	2759	GAGCUGAGUUGGUUU UAUGAAAA	2843
AD-519757.3	csusgaguUfgGfUfUfu uuuuuuL96	2676	asUfsuuuAfaUfAfaaacCfaAfcu cagscsu	2760	AGCUGAGUUGGUUUU AUGAAAAG	2844
AD-519758.2	usgsaguuGfgUfUfUfu uuuuuuL96	2677	asCfsuuuUfcAfUfaaaaCfcAfac ucasgsc	2761	GCUGAGUUGGUUUUA UGAAAAGC	2845
AD-519759.3	gsasguugGfuUfUfUfa uuuuuuL96	2678	asGfscuuUfuCfAfuaaaaAfcCfaa cucsasg	2762	CUGAGUUGGUUUUAU GAAAAGCU	2846
AD-67549.2	asgsuuggUfuUfUfAfu uuuuuuL96	2679	usAfsuucUfuUfCfaaaaAfaCfca acuscsa	2763	UGAGUUGGUUUUAUG AAAAGCUA	2847
AD-519761.3	gsusugguUfuUfAfUfg uuuuuuL96	2680	asUfsagcUfuUfUfcauaAfaAfcc aacsusc	2764	GAGUUGGUUUUAUGA AAAGCUAG	2848
AD-519762.2	ususgguUfuUfUfGfa uuuuuuL96	2681	asCfsuagCfuUfUfcauAfaAfac caascu	2765	AGUUGGUUUUAUGAA AAGCUAGG	2849
AD-1010720.1	usgsuuuUfaUfGfAfa uuuuuuL96	2682	usCfscuaGfcUfUfuucaUfaAfaa ccasasc	2766	GUUGGUUUUAUGAAA AGCUAGGA	2850
AD-67558.2	gsgsuuuAfuGfAfAfa uuuuuuL96	2683	usUfscuuAfgCfUfuuuuAfuAfaa accsasa	2767	UUGGUUUUAUGAAAA GCUAGGAA	2851
AD-1010721.1	csusgcaaAfgAfUfGfa uuuuuuL96	2684	usCfsaagGfuUfAfucauUfuUfug cagsasc	2768	GUCUGCAAAGAUGAU AACCUUGA	2852
AD-520009.1	usgscaaGfaUfGfAfu uuuuuuL96	2685	asUfscuuGfgUfUfcauUfcUfu gcasgsa	2769	UCUGCAAAGAUGAUA ACCUUGAC	2853

AD-520010.1	gscsaaagAfuGfAfUfa accuugacuL96	2686	asGfsucaAfgGfUfuauCfu ugcsasg	2770	CUGCAAAGAUGAUAA CCUUGACU	2854
AD-1010722.1	csasaagaUfgAfUfAfa ccuugacuaL96	2687	usAfsugcAfaGfGfuauCfaUfcu uugcsa	2771	UGCAAAGAUGAUAAAC CUUGACUA	2855
AD-520012.1	asasagauGfaUfAfAfc cuugacuauL96	2688	asUfsaguCfaAfGfguaUfcAfuc uuusgsc	2772	GCAAAGAUGAUAAACC UUGACUAC	2856
AD-520013.1	asasgaugAfuAfAfCfc uugacuacuL96	2689	asGfsuagUfcAfAfgguuAfuCfau cuusug	2773	CAAAGAUGAUAAACCU UGACUACU	2857
AD-1010723.1	asgsaugaUfaAfCfCfu ugacuacuaL96	2690	usAfsguaGfuCfAfagguUfaUfca ucususu	2774	AAAGAUGAUAAACCUU GACUACUA	2858
AD-1010724.1	gsasugauAfaCfCfUfu gacuacuaaL96	2691	usUfsaguAfgUfCfaaggUfuAfuc aucsusu	2775	AAGAUGAUAAACCUUG ACUACUAA	2859
AD-1010725.1	asusgauAfcCfUfUfg acuacuaaaL96	2692	usUfsuagUfaGfUfcaagGfuUfau causcsu	2776	AGAUGAUAAACCUUGA CUACUAAA	2860
AD-1010726.1	usgsauaaCfcUfUfGfa cuacuaaaaL96	2693	usUfsuuuAfgUfGfucaaGfgUfua ucasusc	2777	GAUGAUAAACCUUGAC UACUAAAA	2861
AD-520018.7	gsasuaacCfuUfGfAfc uacuaaaaL96	2694	asUfsuuuAfgUfAfgucaAfgGfu uaucsasu	2778	AUGAUAAACCUUGACU ACUAAAAA	2862
AD-520019.1	asusaaccUfuGfAfCfu acuaaaaaL96	2695	asUfsuuuUfaGfUfagucAfaGfgu uauscsa	2779	UGAUAAACCUUGACUA CUAAAAAC	2863
AD-520020.2	usasaccUfgAfCfUfa cuaaaaacuL96	2696	asGfsuuuUfuAfGfuaguCfaAfgg uuasusc	2780	GAUAACCUUGACUAC UAAAAACG	2864
AD-520021.2	asascuuGfaCfUfAfc uaaaacguL96	2697	asCfsguuUfuUfAfguagUfcAfag guusasu	2781	AUAACCUUGACUACU AAAAACGU	2865
AD-520022.2	ascscuugAfcUfAfCfu aaaaacguuL96	2698	asAfscguUfuUfUfaguaGfuCfaa ggususa	2782	UAACCUUGACUACUA AAAACGUC	2866
AD-520023.2	cscsuugaCfuAfCfUfa aaaacgucuL96	2699	asGfsacgUfuUfUfuaguAfgUfca aggsusu	2783	AACCUUGACUACUAA AACGUCU	2867
AD-520024.2	csusugacUfaCfUfAfa aaacgucuuL96	2700	asAfsagcGfuUfUfuagUfaGfuc aagsgsu	2784	ACCUUGACUACUAAA AACGUCUC	2868
AD-520025.2	ususgacuAfcUfAfAfa aacgucucuL96	2701	asGfsagaCfgUfUfuuuuGfuAfgu caasgsg	2785	CCUUGACUACUAAAA ACGUCUCC	2869
AD-1010727.1	usgsacuaCfuAfAfAfa	2702	usGfsgagAfcGfUfuuuuAfgUfa	2786	CUUGACUACUAAAAA	2870

	acgucuccaL96		gucasasg		CGUCUCCA	
AD-520027.1	gsascuacUfaAfAfAfa cgucuccauL96	2703	asUfsggaGfaCfGfuuuUfaGfua gucsasa	2787	UUGACUACUAAAAAC GUCUCCA	2871
AD-520028.1	ascsuacuAfaAfAfAfc gucuccauL96	2704	asAfsuggAfgAfCfuuUfuAfg uaguscsa	2788	UGACUACUAAAAACG UCUCCAUG	2872
AD-520052.1	asuuuuGfaAfCfAfc cuuuuL96	2705	asUfsgaaAfaAfGfguguUfcUfaa aaususa	2789	UAAUUUUAGAACC UUUUUCAC	2873
AD-520053.2	ususuuagAfaCfAfc uuuuuacuL96	2706	asGfsugaAfaAfAfggugUfuCfua aaasusu	2790	AAUUUUAGAACC UUUCACC	2874
AD-520054.1	ususuagaAfcAfCfCfu uuuucaccuL96	2707	asGfsgugAfaAfAfgguGfuUfcu aaasasu	2791	AUUUUAGAACC UUUCACC	2875
AD-1010728.1	ususagaaCfaCfCfUfu uuuaccuaL96	2708	usAfsugguGfaAfAfaaggUfgUfuc uaasasa	2792	UUUUAGAACC UUUUCACC	2876
AD-1010729.1	usasgaacAfcCfUfUfu uucaccuaL96	2709	usUfsaggUfgAfAfaagGfuGfu cuasasa	2793	UUUAGAACC UUUUCACC	2877
AD-520057.1	asgsaacaCfUfUfUfu ucaccuaL96	2710	asUfsuagGfuGfAfaaaaGfgUfgu ucusasa	2794	UUAGAACC UUUUCACC	2878
AD-520058.1	gsasacacCfuUfUfUfu caccuaacuL96	2711	asGfsuuaGfgUfGfaaaaAfgGfug uucsusa	2795	UAGAACC UUUUCACC	2879
AD-1010730.1	asascaccUfuUfUfUfc accuaacuL96	2712	usAfsuguAfgGfUfgaaaAfaGfgu guuscsu	2796	AGAACC UUUUCACC	2880
AD-1010731.1	ascsaccuUfuUfUfCfa ccuaacuL96	2713	usUfsaguUfaGfGfugaaAfaAfgg ugususc	2797	GAACC UUUUCACC	2881
AD-1010732.1	csasccuuUfuUfCfAfc cuacuL96	2714	usUfsuagUfuAfGfgugaAfaAfg gugsusu	2798	AACACC UUUUCACC	2882
AD-520062.8	ascscuuUfuCfAfc uaacuL96	2715	asUfsuuaGfuUfAfggugAfaAfaa ggusgsu	2799	ACACC UUUUCACC	2883
AD-520063.4	csesuUfuUfCfCfu aacuaL96	2716	asUfsuuAfgUfUfagguGfaAfaa aggsusg	2800	CACC UUUUCACC	2884
AD-1010733.1	csuuuuCfaCfCfUfa acuaL96	2717	usAfsuuUfaGfUfuaggUfgAfaa aaggsu	2801	ACC UUUUCACC	2885
AD-1010734.1	ususuuuAfcCfUfAfa cuuaL96	2718	usUfsauUfuAfGfuagGfuGfaa aaasgsu	2802	CCU UUUUCACC	2886

AD-520066.3	ususuucaCfcUfAfAfc uaaaauaaL96	2719	asUfsuauUfuUfAfguaGfgUfga aaasasg	2803	CUUUUUCACCUAACU AAAAUAAU	2887
AD-520067.4	ususucacCfuAfAfCfu aaaaaaL96	2720	asAfsuuaUfuUfUfaguuAfgGfu gaaasasa	2804	UUUUUCACCUAACUA AAUAAUG	2888
AD-75289.5	ususcaccUfaAfCfUfa aaauaauguL96	2721	asCfsauuAfuUfUfuaguUfaGfgu gaasasa	2805	UUUUCACCUAACUAA AAUAAUGU	2889
AD-520068.4	uscsaccuAfaCfUfAfa aaauaauguL96	2722	asAfscauUfaUfUfuagUfuAfgg ugasasa	2806	UUUCACCUAACUAAA AUAAUGUU	2890
AD-520069.4	csasccuaAfcUfAfAfa aaauaauguL96	2723	asAfsacaUfuAfUfuuuuGfuUfag gugsasa	2807	UUCACCUAACUAAAA UAAUGUUU	2891
AD-1010735.1	ascscuaaCfuAfAfAfa uaauuuuuL96	2724	usAfsaacAfuUfAfuuuuAfgUfua ggusgsa	2808	UCACCUAACUAAAAU AAUGUUUA	2892
AD-67584.6	cscsuaacUfaAfAfAfu aauguuuuaL96	2725	usUfsaaaCfaUfUfauuuUfaGfuu aggsusg	2809	CACCUAACUAAAAUA AUGUUUAA	2893

Таблица 38. Скрининг однократной дозы (нацеленной на PNPLA3) в клетках Нер3В (SD-стандартное отклонение)

Дуплекс	50 нМ		10 нМ		1 нМ		0.1 нМ	
	Средне е	SD	Средне е	SD	Средне е	SD	Средне е	SD
AD-519341.2	52.2135 1	9.72399	66.6380 8	2.89526 1	115.724 1	21.0238 7	107.134 7	9.75960 9
AD-519342.2	37.7107 9	3.79479 6	65.6293 8	11.0542 2	102.142 4	16.3928 3	103.558 9	10.6143 7
AD-519343.2	25.9684 5	4.71058 5	37.9737 1	3.60754 9	107.428 6	25.1844 7	113.949 7	11.8630 9
AD-1010713.1	34.6049 3	14.8206 7	36.5930 8	5.33772 6	70.3241 8	8.02429 2	78.8099 4	4.44782 9
AD-519345.1	22.3228 8	9.86896 4	25.1842 3	5.86849 5	65.1021 6	2.45993 7	94.8767 2	13.7712 6
AD-519346.1	20.2620 2	4.88250 2	24.9252 9	9.08690 3	59.4802 2	11.2196 1	88.2844 3	6.54429 9
AD-519347.1	19.1036 8	3.40187 4	24.4461	3.12350 2	48.0720 9	18.5810 2	83.2650 4	3.65057 4
AD-1010714.1	31.3700 1	9.99093 3	36.6756 6	2.27109 4	69.2948 9	15.0182 3	74.9826 9	12.3622 3
AD-1010715.1	16.1933 8	3.25637 9	25.1257 7	5.09878 9	60.8554 8	8.68673 8	85.4414 8	14.7200 8
AD-519350.2	28.0686 4	12.6396 8	32.8470 1	4.41852 9	82.4838 9	15.1377 2	93.3942 1	13.5247 3
AD-519351.7	33.8848 4	16.1762 8	33.7825 1	6.62005 3	71.8958 5	15.8025 4	90.4867	7.49738 9
AD-519352.1	40.6554 5	6.19204	60.3650 1	10.1728 5	113.265 4	7.29248 7	109.105 9	15.1724
AD-519353.1	44.8190 5	17.2003 6	47.7575 4	1.32064 6	94.7334 2	8.39478 1	90.0269 3	9.49443 3
AD-519354.1	34.5672 8	6.88971 2	35.3900 8	5.77913 1	96.9302 9	26.3289 6	78.9406 2	15.6533 4
AD-519355.1	36.3487 2	3.66476 1	39.6483 1	11.7352 4	74.3766 6	10.1515 1	92.1463 6	20.7665 5
AD-519356.1	39.2263 1	11.9650 1	41.7761 9	4.72067 9	113.64	5.51191 6	86.9540 1	15.2699 1
AD-519357.1	59.9848 4	12.6317 5	77.6808 5	9.16923	147.779 3	20.5561 2	122.094 6	16.731
AD-519358.1	80.9312 5	19.2324 6	104.525 8	17.8860 5	168.036 3	46.4496 5	125.426 9	11.7382
AD-519359.1	47.9377 1	19.7014 6	54.4888 3	6.76903 8	120.868 1	28.9859 8	113.069 8	18.8758 9
AD-519360.1	51.8802 1	2.30556 8	79.6226 6	11.7093 6	127.420 2	14.5427 7	104.435 1	16.6745 8
AD-1010716.1	61.4456 9	7.47019 1	75.0332 9	9.85015	120.361 9	11.7252 7	92.3283 1	8.96217 1
AD-519745.1	54.0862 6	4.47480 3	66.5391 8	7.47326 5	93.4509 5	19.4248 6	89.0087 1	18.5394 4
AD-	61.7501	16.4376	68.2389	8.13180	117.086	22.0638	83.2774	11.8307



519746.1	2		2	1	6	3	9	4
AD-519747.1	54.7026 9	7.40554 1	78.4162 7	22.9550 3	159.082	33.2254 2	127.585 5	7.25580 7
AD-519748.1	65.9723 1	12.6466 5	75.8887 8	13.0782 5	132.791 3	7.23870 3	121.526 9	6.61007 5
AD-519749.1	53.1876 9	11.5297 2	60.7999 9	7.71971 3	104.505 4	17.1313 2	109.738 3	20.9016 4
AD-519750.1	43.3946 9	4.61130 3	49.7767 7	7.23495 7	95.7851 2	18.2130 8	89.9017	12.8237 4
AD-1010717.1	40.1712 1	3.64858 4	49.8075 4	8.55961 6	103.449 6	28.4919 6	88.2561 9	12.3531 7
AD-67554.7	29.9581 4	2.51604 8	41.3910 2	2.18698 8	80.6199 9	14.1847 4	80.3652 2	12.5964 9
AD-519752.3	35.5027 9	6.56642 7	44.0524 2	5.61627 8	70.0757	7.85459 7	67.1874	8.69981 3
AD-1010718.1	53.9199 5	6.17794 2	49.7966 6	7.57600 5	117.297	23.8298 1	132.252 9	18.6017 5
AD-519754.9	63.5034 6	10.9959 9	81.5342 7	7.65546 4	137.870 8	5.33604 1	150.681 1	23.7848 1
AD-75276.2	43.7683 3	3.39359	54.2713 2	12.5548 5	110.375 7	32.6954 7	93.1702	15.6803 5
AD-1010719.1	47.6997 1	11.0769 2	59.2131 3	4.43472 6	106.835 9	19.3307 7	103.651 5	11.8516 8
AD-519757.3	33.8501 4	2.34844	50.0841 2	5.57959 6	74.9398 6	9.46620 4	86.5679 6	5.48371 7
AD-519758.2	43.8025	3.98758 1	45.8113 4	7.63864 3	86.3735 7	3.98325 3	84.4413 4	7.15912 8
AD-519759.3	49.9200 8	6.95819 8	65.8598 2	22.9003 9	92.3706 6	20.6222 8	88.0230 1	11.2455 5
AD-67549.2	40.8168 4	7.03693 5	41.1870 2	2.40998 3	79.3618 8	24.5341 6	75.4567 6	3.92128 8
AD-519761.3	52.5937 9	9.42036 5	60.0531 5	6.05037 6	110.666 5	15.7097 7	158.684 9	22.7737
AD-519762.2	62.4297 2	6.59052 2	78.4842 5	9.98238 4	156.408 3	30.4558 2	138.657 7	14.4992 6
AD-1010720.1	64.1853 3	2.15144 3	73.6032 8	8.13166 7	142.682 5	22.5081 9	122.085 3	35.2539 6
AD-67558.2	59.7575 6	10.2226 1	73.5727 3	19.6715 3	138.132 7	36.9803 4	104.997	8.00832 9
AD-1010721.1	74.9059 3	15.4599 1	82.1389 5	5.89366 5	109.896 3	16.7703 7	101.386	9.63603 4
AD-520009.1	50.6145 6	5.09016 5	56.2791 6	5.40425 6	100.959 1	34.0218 5	88.9346 5	11.1838 2
AD-520010.1	33.0260 8	4.74480 7	47.4329 8	8.95083 5	75.8094 9	13.9089 1	75.4890 6	4.70290 5
AD-1010722.1	63.1191 7	8.12361 7	52.2351 7	6.72079 5	125.026 2	41.7076	125.986 1	23.4993 3
AD-520012.1	30.9272	6.52660 4	43.0757 8	11.1670 6	88.3946 9	12.6899 7	103.779 8	24.4901 3
AD-	41.9009	4.23888	63.2915	7.12522	124.790	34.6674	104.344	13.7086

520013.1		2	1	1	4	7		4
AD-1010723.1	43.0193 2	10.6476	72.6328 3	17.4451 6	114.870 4	43.3391 5	105.716 1	27.0445 4
AD-1010724.1	26.9185 3	1.61801 9	38.7867 9	2.81381 6	78.0749 8	17.5219 9	85.7066	11.7414 5
AD-1010725.1	36.4193 2	6.51483 4	47.5806 7	9.39082 5	71.4947 6	10.1454 6	74.9356 1	9.65005
AD-1010726.1	26.6071 2	4.09594	42.2791 3	12.7339	47.1864 5	17.8160 5	73.1398 7	7.89439 5
AD-520018.7	18.4435 7	6.26257 6	29.1177 9	3.21431 9	66.6432 6	36.1265 6	65.9298 4	5.91976 4
AD-520019.1	30.9879	6.70670 4	40.5128 7	1.31516 1	110.634 5	37.8697 3	132.956 1	24.0657 4
AD-520020.2	43.1930 6	6.86660 4	53.5939 2	12.8242	130.469 7	25.4593 1	147.521 4	38.3228 6
AD-520021.2	45.2373	5.70886 7	56.1250 6	5.68137 3	107.784 4	21.3496 7	109.479 6	4.55527 5
AD-520022.2	44.3872 7	3.59244 7	63.1326 4	9.55872 7	90.9357 7	6.74128 1	122.209 7	7.65465 2
AD-520023.2	44.8494 1	4.67003 4	68.7630 9	3.40830 1	110.825 7	11.2628	96.4240 4	6.71372 1
AD-520024.2	26.6132 2	1.99188 1	44.7432 5	7.63573 8	86.3716 2	27.1755 6	87.3230 8	11.9262 4
AD-520025.2	30.0097 4	5.75711	49.4130 3	8.12465 5	63.2346 8	31.2429	79.0193 3	12.7362 9
AD-1010727.1	40.3277 2	11.5133 3	50.6338 4	4.77068 4	84.3756 3	13.3368 1	87.9446 5	21.3555 8
AD-520027.1	50.5870 5	4.54967 5	63.9167 9	8.22888 2	134.997 9	10.3952 1	116.923 6	21.8809 2
AD-520028.1	48.1695	23.1568 2	56.1863 1	9.33864 2	118.854 8	28.8588 6	136.371 5	13.3199 7
AD-520052.1	35.4812 3	3.57286 3	52.3321 4	7.95661 3	101.304 1	18.8996 1	117.092 9	16.5451 3
AD-520053.2	25.6155 8	10.2970 2	38.3015 1	6.36998 2	68.8129 2	6.91571 1	82.9410 8	12.7222 2
AD-520054.1	53.6579 3	9.75168 6	71.4843 8	8.27016 7	113.374 5	15.8796 7	98.4262 5	21.2971 1
AD-1010728.1	32.8009 5	10.4586 9	37.6546 6	2.60557 4	75.2731 8	8.75743 5	78.8461 3	9.21061 3
AD-1010729.1	22.0078	5.29366 7	32.1864 6	4.56542 8	68.3304 7	13.3224 4	67.9955 7	7.21990 4
AD-520057.1	38.5279 9	10.3950 5	38.2816 1	5.57113 8	75.4446 3	10.4250 6	103.828 7	15.2188 7
AD-520058.1	59.1476 3	10.9264 9	59.8011	4.16205 6	114.131 6	37.2530 7	141.009 8	10.5314 4
AD-1010730.1	40.4781	6.02404 8	55.6074 8	3.68018 5	100.022 8	27.0054 7	112.454 8	23.4400 9
AD-1010731.1	24.9077 4	6.30736	37.2563 1	6.90626 8	77.2640 8	2.01684 1	80.7145 1	8.74328 6
AD-	22.0836	3.88877	31.1535	4.13346	77.8302	21.5893	80.5481	2.88348

1010732.1	7	4	5	9	4	5	5	6
AD-520062.8	18.8146 7	2.51237 8	36.6562 7	4.46957 2	66.1438 4	9.07425 5	60.4403 9	8.88314 4
AD-520063.4	26.0814 3	3.91292 4	30.5829 6	2.00451 2	62.5723 5	12.4226 2	61.8516 4	3.90666 8
AD-1010733.1	28.4187 6	6.38097	36.4968 9	5.49747 2	69.5066 1	8.53537 2	97.6711 6	16.2376 5
AD-1010734.1	39.2694 3	2.25010 3	41.7853 6	2.94041 7	73.3251 4	8.49144 1	113.930 1	16.0180 3
AD-520066.3	53.9482 7	7.16894 9	63.7194 9	12.0830 7	84.2358 5	9.55670 3	103.060 3	12.6162
AD-520067.4	47.7984	18.0523 1	43.0268 7	12.7803 1	79.2662 6	20.8905 6	91.8277 8	14.7488 7
AD-75289.5	47.4098 8	6.15640 9	56.5460 5	7.09320 7	105.822 5	20.8766 6	103.582 5	8.55242 3
AD-520068.4	75.2469 1	7.35368 6	61.7940 9	10.5601 9	106.433 1	12.0437 8	131.359 8	100.078 4
AD-520069.4	49.3564 8	17.6201 8	54.3552 8	7.38040 1	87.3194 7	8.16818 8	75.9654 5	3.57541
AD-1010735.1	24.3904 4	6.60858	29.2195 1	5.65758 5	58.0864	16.9745 1	61.0290 2	7.29078
AD-67584.6	33.4967 1	5.09947	29.7718 3	1.37033 7	61.8599 5	3.78258 4	84.8569 2	13.4988 1

**Таблица 39. Скрининг однократной дозы (нацеленной на PNPLA3) в первичных гепатоцитах яванского макака РСН)**

Дупле кс	50 нМ		10 нМ		1 нМ		0.1 нМ	
	Средне е	SD	Средне е	SD	Дуплекс	Среднее	SD	Среднее
AD-519341.2	33.1808 4	4.70438 6	51.7747 3	11.57 52	102.7701	28.44004	86.592 7	19.77298
AD-519342.2	18.5856 2	2.33748 6	36.9839 8	12.37 523	72.89022	19.41867	88.263 93	11.36751
AD-519343.2	14.9280 7	4.22668 2	25.4427 5	6.942 827	34.02826	9.334955	78.657 41	29.73611
AD-1010713.1	17.5414 5	2.86454 9	16.8721 3	0.624 218	31.41544	9.277138	46.057 22	5.815894
AD-519345.1	13.0926	1.62796 8	17.7335 1	4.187 537	33.40954	11.52569	61.766 61	12.4429
AD-519346.1	10.6233	1.20716 2	15.8056 7	3.743 256	25.06314	8.677675	50.531 95	18.40728
AD-519347.1	12.1383 4	1.97355 4	16.7373 5	3.727 868	29.75023	6.687112	72.915 58	28.98494
AD-	22.5846	5.72920	42.9018	5.650	53.69003	13.75494	106.22	31.96262

101071 4.1	7	9	5	413			92	
AD- 101071 5.1	30.4728 7	2.03335 9	42.7761 7	12.49 897	48.47358	7.69011	136.89	52.34067
AD- 519350 .2	21.6743 6	0.89288 6	30.5101 1	13.75 843	33.43008	3.661736	64.392 07	3.609213
AD- 519351 .7	38.4739	3.24847 2	45.7586 7	7.169 571	42.10825	4.048311	73.028 53	7.464011
AD- 519352 .1	22.7289 9	1.37936 1	20.5061 5	1.899 178	41.65781	2.492385	81.909 75	7.028732
AD- 519353 .1	31.2533 8	6.51944 3	40.6424 5	8.240 87	56.83054	9.822431	89.055 21	5.409826
AD- 519354 .1	23.2196 8	0.52564 1	32.9980 7	6.969 361	35.03392	5.055374	66.524 34	5.345017
AD- 519355 .1	23.4425	3.04545 1	29.1657	11.45 662	34.05687	10.96159	68.508 02	3.06385
AD- 519356 .1	38.1017 5	10.0249 9	45.2067 5	10.47 852	72.97533	11.00292	93.515 06	0.458343
AD- 519357 .1	68.1043 5	5.02870 6	73.6029 1	12.47 881	113.0562	9.035648	123.39 18	14.48132
AD- 519358 .1	109.734 3	17.9217 1	120.150 5	13.91 801	101.5	15.15514	102.03 46	7.956678
AD- 519359 .1	30.4451 1	3.27825 5	29.7076 2	5.861 745	61.38724	5.037295	84.237 48	4.7701
AD- 519360 .1	71.3201 1	6.26144	60.6403 2	5.051 455	94.20443	20.83632	105.35 15	17.96005
AD- 101071 6.1	41.7096	3.05580 2	41.9722	9.091 862	65.15609	12.01425	95.193 02	7.29294
AD- 519745 .1	43.9658 1	6.84819	41.2971 7	11.96 036	57.69556	3.294909	101.71 43	27.79148
AD- 519746 .1	47.4999 7	4.69139 7	49.4222 4	10.30 268	69.45745	1.687739	106.02 36	34.1365
AD- 519747 .1	53.5220 3	9.62160 5	51.3586 7	12.09 421	88.54727	16.1145	104.68 44	15.33743
AD-	35.7210	1.97075	44.3953	12.37	78.95901	31.30559	93.559	7.035535

519748 .1	6	7	1	111			54	
AD- 519749 .1	30.2730 2	2.18686 6	35.6452 5	6.380 4	46.6698	13.31953	86.659 86	15.2604
AD- 519750 .1	25.5522 3	1.01578 6	38.2956 6	5.873 705	42.79628	11.71471	83.337 08	17.28221
AD- 101071 7.1	22.1958 1	0.44408 1	28.2119 8	14.87 198	28.17989	2.0589	63.124 16	12.68905
AD- 67554. 7	20.5347	2.08619 4	24.3270 9	7.309 121	24.89249	2.097502	64.264 67	26.77638
AD- 519752 .3	25.6799 2	1.93136 6	25.3874 6	5.112 742	42.34479	11.2942	75.528 02	10.90585
AD- 101071 8.1	27.1860 8	3.71574 7	44.6963 4	13.64 543	48.87007	19.38281	78.411 01	3.841614
AD- 519754 .9	24.5805 8	2.85202	28.5592 6	7.047 54	47.1156	7.0551	71.757 72	5.289018
AD- 75276. 2	19.9415 4	0.71594 5	24.5951 2	8.783 805	30.73496	3.219686	51.975 64	0.855416
AD- 101071 9.1	18.4675 7	1.78495 3	26.2526 9	12.98 876	26.24527	1.8937	53.237 16	8.284764
AD- 519757 .3	17.8355 8	1.13252	17.5673 4	2.632 221	24.14466	6.652008	58.057 75	6.720028
AD- 519758 .2	30.3283 2	14.9866 6	34.3303 9	8.904 242	41.55164	3.189487	70.087	8.848411
AD- 519759 .3	27.6148 3	3.20148 5	28.9686 6	9.441 592	51.66033	7.747181	84.457 16	2.659745
AD- 67549. 2	25.2641 7	3.32559 8	24.0704	8.074 096	57.06476	29.59065	66.761 09	6.859419
AD- 519761 .3	27.2994 8	4.06170 2	29.4023 4	8.230 2	55.97938	17.49415	73.828 6	14.32816
AD- 519762 .2	26.2541	2.45967 7	29.0839 8	11.56 778	47.0892	6.508957	71.658 44	6.793264
AD- 101072 0.1	35.1010 5	11.0271	54.5053 6	17.15 505	60.95521	6.424327	90.653 54	1.622368
AD-	27.2677	1.70370	31.8311	3.376	48.59497	11.6838	80.237	9.139227

67558. 2	5	1	7	294			11	
AD- 101072 1.1	98.7348 8	10.6700 8	88.6385 2	7.615 453	93.6516	8.708677	115.02 84	13.90528
AD- 520009 .1	115.188 1	12.3010 3	89.7324 5	7.894 185	118.2456	7.323628	95.748 07	5.145745
AD- 520010 .1	79.8945 2	5.89490 2	73.5759 3	14.79 716	77.45514	10.3914	94.765 17	5.195967
AD- 101072 2.1	109.359 5	4.50588 5	100.827 4	14.68 297	95.49468	15.87513	100.57 43	0
AD- 520012 .1	97.0721 3	20.4787 8	91.7602 9	9.692 549	81.80022	11.24291	94.552 3	12.13118
AD- 520013 .1	103.448 9	3.94359 9	108.806 8	18.33 588	109.6015	12.80929	93.264 1	4.523871
AD- 101072 3.1	27.5884 3	2.33859 6	35.6561 1	10.13 28	47.56411	9.976614	90.995 18	25.74328
AD- 101072 4.1	26.4672 8	1.47565	26.9097 6	9.425 383	41.29731	5.581072	82.426 02	17.91712
AD- 101072 5.1	80.0121	1.32014 4	71.0369 7	8.193 035	82.02665	7.278687	88.377 11	12.41996
AD- 101072 6.1	63.4965 8	3.45364 2	62.8358 3	7.301 534	61.38155	2.787238	79.465 93	6.682405
AD- 520018 .7	19.2738 2	1.03511 1	23.7191 8	6.107 674	42.88368	15.39814	51.910 96	6.597352
AD- 520019 .1	67.7537 1	4.81531 7	85.4641 3	27.97 837	71.69335	10.2165	76.655 92	7.666444
AD- 520020 .2	49.6411 9	2.55910 6	51.8957 7	10.90 042	64.34529	12.73844	78.404 91	2.962168
AD- 520021 .2	32.1964 9	2.92346 2	38.9785 1	7.033 731	44.36721	4.429857	83.140 57	9.906269
AD- 520022 .2	88.5209 2	3.68321 8	80.5778 2	9.474 541	85.40397	11.73205	85.339 02	19.51987
AD- 520023 .2	80.5477 6	7.36307 3	79.9123 6	12.33 69	85.55517	8.321525	92.017 58	8.16751
AD-	70.4873	4.49636	68.0894	12.00	63.8255	4.218374	86.798	6.014172

520024 .2	2	4	9	69			99	
AD- 520025 .2	106.695	7.55964 7	104.858 6	8.904 212	91.01226	5.278714	95.255 08	5.172506
AD- 101072 7.1	84.2983 4	2.38538 2	79.6343 1	13.52 425	79.97708	9.775323	107.71 04	11.7926
AD- 520027 .1	105.033 8	10.4255 3	128.689 1	32.45 594	91.12301	5.761488	88.559 91	5.638937
AD- 520028 .1	84.8098 3	4.62314 3	91.4345 2	13.36 049	74.04805	14.08942	86.910 35	10.10266
AD- 520052 .1	59.0028 1	2.12268 6	70.0003 9	17.00 761	69.18847	13.57631	85.223 23	3.765275
AD- 520053 .2	15.3949	1.83305 4	21.1712 7	6.166 623	26.30001	1.075899	49.581 36	3.127215
AD- 520054 .1	30.3976 8	1.55747 4	28.4391 2	1.449 68	62.62253	14.75011	80.484 58	6.455693
AD- 101072 8.1	27.4919 6	18.5172 4	22.7733 9	8.901 944	27.00153	3.445434	54.655 15	5.160433
AD- 101072 9.1	27.5283 5	1.07585 6	36.0057 8	17.45 302	46.0388	21.7126	69.473 84	16.70382
AD- 520057 .1	27.2029 5	3.82747 7	39.7819 6	17.84 45	61.48804	29.47533	44.248 07	1.517811
AD- 520058 .1	19.1199 4	1.59628 7	25.6218 8	10.70 99	30.55429	4.855674	73.411 37	19.43665
AD- 101073 0.1	21.7339 5	10.6979	16.7055 5	2.655 59	32.62999	3.77557	56.718 24	9.339537
AD- 101073 1.1	18.7934 9	9.61494 2	20.3372 3	5.175 419	21.75738	3.898997	34.066 92	1.207849
AD- 101073 2.1	12.5915 6	2.24075 2	15.6433 1	7.150 228	19.65225	1.464936	34.336 4	5.246713
AD- 520062 .8	14.2140 6	1.67627 2	15.8754 3	2.458 405	26.63561	8.918796	30.542 1	5.165147
AD- 520063 .4	16.7567 1	8.28433 8	23.8004 3	7.588 999	32.82854	12.10351	59.925 05	16.52704
AD-	22.3281	7.23678	25.9285	23.77	35.99174	17.74611	60.474	14.91008

101073 3.1	6	8	4	87			82	
AD- 101073 4.1	18.2430 2	1.75205 8	18.3624 1	1.316 487	23.71195	4.176413	41.717 39	6.863728
AD- 520066 .3	21.0506	1.76381 4	23.5591 6	7.459 88	27.17446	7.015571	43.359 77	15.45225
AD- 520067 .4	14.9275 3	1.83065 8	18.1301 1	4.290 801	35.8336	8.2811	40.556 44	8.154041
AD- 75289. 5	26.4484 5	8.97769 2	20.8928 3	2.747 366	34.44447	3.263865	83.957 98	24.73915
AD- 520068 .4	38.0387 2	12.4876 9	46.5465 4	12.13 287	35.73126	8.737018	57.922 83	4.998898
AD- 520069 .4	25.9118 6	7.62508 4	30.8517 3	14.50 31	31.7561	3.069982	54.358 4	6.314143
AD- 101073 5.1	16.9221 9	0.84652 3	35.0270 2	7.741 908	26.23645	1.86282	61.525 8	10.92313
AD- 67584. 6	25.8822 9	6.36258 8	22.7203 4	3.768 779	30.82832	0.453279	66.792 76	7.638439

### Пример 6. Скрининг *in vivo* дсРНК дуплексов у мышей

Представляющие интерес дуплексы, идентифицированные в ходе вышеуказанных исследований SAR *in vitro*, оценивали *in vivo*. В частности, за день до введения дозы 14 мышей дикого типа (C57BL/6) трансдуцировали путем внутривенного введения  $2 \times 10^{10}$  вирусных частиц вектора аденоассоциированного вируса 8 (AAV8), кодирующего PNPLA3 человека. В частности, мышам вводили AAV8, обозначаемую как AAV8-TBG-PI-PNPLA3, кодирующий часть мРНК PNPLA3 человека, кодирующую открытую рамку считывания, и 3'-UTR мРНК PNPLA3 человека, обозначенную как NM\_025225.2.

В день 0 группам из трех мышей подкожно вводили однократную дозу 10 мг/кг исследуемых агентов или контрольного PBS. В Таблице 40 представлены группы лечения, а в Таблице 41 представлены представляющие интерес дуплексы. На 7-й день после введения дозы животных умерщвляли, образцы печени собирали и быстро замораживали в жидком азоте. мРНК печени экстрагировали и анализировали методом RT-QPCR.

Уровни мРНК PNPLA3 человека сравнивали с уровнями гена домашнего хозяйства, GAPDH. Затем значения нормализовали к среднему значению для контрольной группы с носителем PBS. Данные были выражены в процентах от исходного значения и представлены как среднее значение плюс стандартное отклонение. Результаты, перечисленные в Таблице 42 и показанные на Фигуре 5, демонстрируют, что протестированные репрезентативные дуплексные агенты эффективно снижают уровень



матричной РНК PNPLA3 человека *in vivo*.

**Таблица 40. Экспериментальные группы**

Обработка	Доза	Точка времени
PBS	нет	День 7
Без обработки		
AD-519345.1		
AD-519346.1		
AD-519347.1		
AD-67554.7		
AD-519752.3		
AD-1010731.1		
AD-1010732.1		
AD-519343.1		
AD-519344.1		
AD-519349.1		
AD-519350.1		
AD-519753.2		
AD-519932.1		
AD-519935.2		
AD-520018.6 (+ CTL)		

**Таблица 41. Дуплексы, представляющие интерес**

ID дуплекса	Позиции в NM_025225.2
AD-519345.1	1210-1232
AD-519346.1	1211-1233
AD-519347.1	1212-1234
AD-67554.7	1738-1760
AD-519752.3	1739-1761
AD-1010731.1	2110-2132
AD-1010732.1	2111-2133
AD-519343.1	1208-1230
AD-519344.1	1209-1231
AD-519349.1	1214-1236
AD-519350.1	1215-1237
AD-519753.2	1740-1762
AD-519932.1	1920-1942
AD-519935.2	1923-1945
AD-520018.6 (+ CTL)	2108-2130

**Таблица 42.**

Дуплекс	% остаточного сигнала	SD
PBS Day 7	100.83	7.41
Naïve Day 7	76.79	26.41
AD-519346.1	20.93	7.32
AD-67554.7	24.35	11.53
AD-520018.6 (+ CTL)	24.99	1.97
AD-519350.1	25.42	2.79
AD-519347.1	25.76	8.01

AD-519349.1	28.37	10.58
AD-519345.1	29.15	8.28
AD-519753.2	36.95	13.35
AD-519752.3	39.67	5.40
AD-519343.1	39.81	12.85
AD-519932.1	40.63	1.38
AD-1010732.1	42.63	4.42
AD-1010731.1	42.89	5.68
AD-519935.2	50.93	8.55
AD-519344.1	59.71	22.61

Дополнительные представляющие интерес дуплексы, идентифицированные в вышеприведенных исследованиях SAR *in vitro*, были оценены *in vivo*. В частности, за день до введения дозы 14 мышей дикого типа (C57BL/6) трансдуцировали путем внутривенного введения  $2 \times 10^{10}$  вирусных частиц вектора аденоассоциированного вируса 8 (AAV8), кодирующего PNPLA3 человека. В частности, мышам вводили AAV8, кодирующий полный транскрипт NM\_025225.2 мРНК PNPLA3 человека, обозначаемый как AAV8-TBG-PI-PNPLA3.

В день 0 группам из трех мышей подкожно вводили однократную дозу 10 мг/кг исследуемых агентов или контрольного PBS. В Таблице 43 представлены группы лечения, а в Таблице 44 представлены представляющие интерес дуплексы. На 7-й день после введения дозы животных умерщвляли, образцы печени собирали и быстро замораживали в жидком азоте. мРНК печени экстрагировали и анализировали методом RT-QPCR.

Уровни мРНК PNPLA3 человека сравнивали с уровнями гена домашнего хозяйства, GAPDH. Затем значения нормализовали к среднему значению для контрольной группы с носителем PBS. Данные были выражены оценивается в процентах от исходного значения и представляется как среднее значение плюс стандартное отклонение. Результаты, перечисленные в Таблице 45 и показанные на Фигуре 6, демонстрируют, что протестированные репрезентативные дуплексные агенты эффективно снижают уровень матричной РНК PNPLA3 человека *in vivo*.

**Таблица 43. Экспериментальные группы**

Группа #	Животное #	Обработка	Доза	Точка времени
1	1	PBS	нет	D7
	2			
	3			
2	4	Без обработки	нет	
	5			
	6			
3	7	AD-517837.2	10 мг/кг	
	8			
	9			
4	10	AD-805635.2		
	11			
	12			
5	13	AD-519329.2		

	14		
	15		
6	16	AD-520063.2	
	17		
	18		
7	19	AD-519757.2	
	20		
	21		
8	22	AD-805631.2	
	23		
	24		
9	25	AD-516917.2	
	26		
	27		
10	28	AD-516828.2	
	29		
	30		
11	31	AD-518983.2	
	32		
	33		
12	34	AD-805636.2	
	35		
	36		
13	37	AD-519754.7	
	38		
	39		
14	40	AD-520062.2	
	41		
	42		

**Таблица 44. Дуплексы, представляющие интерес**

<b>ID дуплекса</b>	<b>Позиции в NM 025225.2</b>
AD-517837.2	1901-1923
AD-805635.2	2182-2200
AD-519329.2	1192-1214
AD-520063.2	2179-2201
AD-519757.2	1744-1766
AD-805631.2	1267-1285
AD-516917.2	795-817
AD-516828.2	677-699
AD-518983.2	773-795
AD-805636.2	1219-1237
AD-519754.7	1741-1763
AD-520062.2	2178-2200

**Таблица 45.**

<b>Дуплекс</b>	<b>% остаточного сигнала</b>	<b>SD</b>
PBS Day 7	103.97	40.22
Naïve Day 7	89.23	68.18
AD-517837.2	65.26	22.46
AD-805635.2	57.62	37.80

Дуплекс	% остаточного сигнала	SD
AD-519329.2	61.36	18.29
AD-520063.2	32.76	9.36
AD-519757.2	22.05	11.75
AD-805631.2	19.04	29.79
AD-516917.2	62.84	35.48
AD-516828.2	88.00	22.18
AD-518983.2	113.79	21.80
AD-805636.2	53.33	6.27
AD-519754.7	70.77	17.96
AD-520062.2	41.73	12.10

Дополнительные представляющие интерес дуплексы, идентифицированные в вышеприведенных исследованиях SAR *in vitro*, были оценены *in vivo*. В частности, за день перед введением дозы 14 мышей дикого типа (C57BL/6) трансдуцировали путем внутривенного введения  $2 \times 10^{10}$  вирусных частиц вектора аденоассоциированного вируса 8 (AAV8), кодирующего PNPLA3 человека. В частности, мышам вводили AAV8, обозначаемый как AAV8-TBG-PI-PNPLA3, и кодирующий открытую рамку считывания и 3'-UTR мРНК PNPLA3 человека, обозначенную как NM\_025225.2.

В день 0 группам из трех мышей подкожно вводили однократную дозу 10 мг/кг исследуемых агентов или контрольного PBS. В Таблице 46 представлены группы лечения, а в Таблице 47 представлены представляющие интерес дуплексы. На 7-й день после введения дозы животных умерщвляли, образцы печени собирали и быстро замораживали в жидком азоте. мРНК печени экстрагировали и анализировали методом RT-QPCR.

Уровни мРНК PNPLA3 человека сравнивали с уровнями гена домашнего хозяйства, GAPDH. Затем значения нормализовали к среднему значению для контрольной группы, обработанных носителем PBS. Данные были выражены в процентах от исходного значения и представлены как среднее значение плюс стандартное отклонение. Результаты, перечисленные в Таблице 48 и показанные на Фигуре 7, демонстрируют, что протестированные репрезентативные дуплексные агенты эффективно снижают уровень матричной РНК PNPLA3 человека *in vivo*.

**Таблица 46. Экспериментальные группы**

Группа #	Животное #	Обработка	Доза	Точка времени
1	1	PBS	нет	D7
	2			
	3			
2	4	Без обработки	нет	
	5			
	6			
3	7	AD-67575.9	10 мг/кг	
	8			
	9			
4	10	AD-518923.3		

	11			
	12			
5	13	AD-520053.4		
	14			
	15			
6	16	AD-519667.2		
	17			
	18			
7	19	AD-519773.2		
	20			
	21			
8	22	AD-519354.2		
	23			
	24			
9	25	AD-520060.4		
	26			
	27			
10	28	AD-520061.4		
	29			
	30			
11	31	AD-520062.9		
	32			
	33			
12	34	AD-520063.5		
	35			
	36			
13	37	AD-1010733.2		
	38			
	39			
14	40	AD-1010735.2		
	41			
	42			
15	43	AD-520018.4 (+ CTL)		
	44			
	45			

**Таблица 47. Дуплексы, представляющие интерес**

<b>ID дуплекса</b>	<b>Позиции в NM_025225.2</b>
AD-67575.9	2241-2263
AD-518923.3	683-705
AD-520053.4	2169-2191
AD-519667.2	1631-1653

ИД дуплекса	Позиции в NM_025225.2
AD-519773.2	1760-1782
AD-519354.2	1219-1241
AD-520060.4	2176-2198
AD-520061.4	2177-2199
AD-520062.9	2178-2200
AD-520063.5	2179-2201
AD-1010733.2	2114-2136
AD-1010735.2	2121-2143
AD-520018.4 (+ CTL)	2108-2130

Таблица 48.

Дуплекс	% остаточного сигнала	SD
PBS День 7	101.90	6.24
Без обработки День 7	78.59	3.28
AD-519773.2	26.03	3.77
AD-520018.4 (+ CTL)	33.95	10.54
AD-520053.4	34.87	3.84
AD-520063.5	39.46	2.44
AD-520062.9	43.73	13.15
AD-1010733.2	45.97	8.41
AD-520060.4	49.04	16.64
AD-520061.4	49.32	4.29
AD-1010735.2	50.04	10.92
AD-519354.2	50.21	22.03
AD-519667.2	51.76	10.29
AD-67575.9	63.91	15.29
AD-518923.3	143.13	33.05

#### Пример 7. Дизайн, синтез и скрининг *in vitro* дополнительных dsРНК дуплексов

Дополнительные siРНК были сконструированы, синтезированы и получены с использованием способов, известных в данной области и описанных выше в Примере 1.

Подробные списки дополнительных немодифицированных нуклеотидных последовательностей смысловой и антисмысловой цепей PNPLA3 показаны в Таблице 49. Подробные списки модифицированных нуклеотидных последовательностей смысловой и антисмысловой цепей PNPLA3 показаны в Таблице 50.

Скрининг разовых доз дополнительных агентов проводили путем свободного поглощения и трансфекции.

Эксперименты по свободному поглощению проводили путем добавления 2,5 мкл

дуплексов siРНК в PBS на лунку 96-луночного планшета. Затем к siРНК добавляли полную культуральную среду (47,5 мкл), содержащую приблизительно  $1.5 \times 10^4$  первичных гепатоцитов яванского макака (РСН). Клетки инкубировали в течение 48 часов перед очисткой РНК и проведением RT-qPCR. Эксперименты по введению однократных доз проводили при конечной концентрации дуплекса 500 нМ, 100 нМ, 10 и 1 нМ.

Для трансфекции клетки Hep3В (ATCC, Manassas, VA) выращивали почти до слияния при 37°C в атмосфере с 5% CO<sub>2</sub> в минимальной основной среде Игла (Eagle's Minimum Essential Medium (Gibco)) с добавлением 10% FBS (ATCC) перед высвобождением из планшета путем трипсинизации. Трансфекцию осуществляли путем добавления 7,5 мкл Opti-MEM плюс 0,1 мкл Lipofectamine РНКиМах на лунку (Invitrogen, Carlsbad CA. cat # 13778-150) к 2,5 мкл каждого дуплекса siРНК в отдельную лунку в 384-луночном планшете. Затем смесь инкубировали при комнатной температуре в течение 15 минут. Затем к смеси siРНК добавляли 40 мкл полной питательной среды без антибиотика, содержащей  $1.5 \times 10^4$  клеток Hep3В. Клетки инкубировали в течение 24 часов перед очисткой РНК. Эксперименты с однократной дозой проводили при конечной концентрации дуплекса 50 нМ, 10 нМ, 1 нМ и 0,1 нМ.

Выделение тотальной РНК проводили с использованием DYNABEADS. Вкратце, клетки лизировали в 10 мкл лизирующего/связывающего буфера, содержащего 3 мкл гранул на лунку, и перемешивали в течение 10 минут на электростатическом шейкере. Этапы промывки были автоматизированы на Biotek EL406 с использованием магнитной опоры для пластин. Гранулы промывали (в 3 мкл) один раз в буфере А, один раз в буфере В и дважды в буфере Е с промежуточными этапами аспирации. После последней аспирации в каждую лунку добавляли 12 мкл полной RT смеси, как описано ниже.

Для синтеза кДНК (сDNA) в каждую лунку добавляли мастер-микс, состоящий из: 1,5 мкл 10X буфера, 0,6 мкл 10X dNTP, 1,5 мкл случайных праймеров, 0,75 мкл обратной транскриптазы, 0,75 мкл ингибитора РНКазы и 9,9 мкл H<sub>2</sub>O на реакцию. Планшеты запечатывали, встряхивали в течение 10 минут на электростатическом шейкере, а затем инкубировали при 37°C в течение 2 часов. После этого планшеты встряхивали при 80°C в течение 8 минут.

RT-qPCR выполняли, как описано выше, и относительное кратное изменение рассчитывали, как описано выше.

Результаты анализов трансфекции средств на основе dsРНК, перечисленных в Таблицах 49 и 50, в клетках Hep3В показаны в таблице 51. Результаты эксперимента по свободному поглощению средств на основе dsРНК, перечисленных в таблицах 49 и 50, первичными гепатоцитами яванского макака (РСН) показано в Таблице 52.

Таблица 49. Немодифицированные последовательности смысловой и антисмысловой цепей средств на основе дсРНК PNPLA3

Название дуплекса	Смысловая последовательность от 5' до 3'	SEQ ID NO:	Позиции в NM 025225.2	Антисмысловая последовательность от 5' до 3'	SEQ ID NO:	Позиции в NM 025225.2
AD-67554.9	UCUGAGCUGAGUUGGUUU UAU	2894	1740-1760	AUAAAACCAACUCAGCUCAG AGG	3074	1738-1760
AD-1193317.1	UCUGAGCUGAGUUGGUUU UAU	2895	1740-1760	AUAAAACCAACUCAGCUCAG AGG	3075	1738-1760
AD-1193318.1	UCUGAGCUGAGUUGGUUU UAU	2896	1740-1760	ATAAAACCAACTCAGCUCAGA GG	3076	1738-1760
AD-1193319.1	UCUGAGCUGAGUUGGUUU UAU	2897	1740-1760	AUAAAACCAACUCAGCUCAG ACC	3077	1738-1760
AD-1193320.1	UCUGAGCUGAGUUGGUUU UAU	2898	1740-1760	ATAAAACCAACTCAGCUCAGA CC	3078	1738-1760
AD-1193321.1	UGAGCUGAGUUGGUUUUA U	2899	1742-1760	AUAAAACCAACUCAGCUCAG C	3079	1740-1760
AD-1193322.1	UGAGCUGAGUUGGUUUUA U	2900	1742-1760	ATAAAACCAACTCAGCUCAGC	3080	1740-1760
AD-1193344.1	UCUGAGCUGAGUUGGUUU UAU	2901	1740-1760	AUAAAACCAACUCAGCUCAG AGG	3081	1738-1760
AD-1193324.1	UCUGAGCUGAGUUGGUUU UAU	2902	1740-1760	AUAAAACCAACUCAGCUCAG AGG	3082	1738-1760
AD-1193325.1	UCUGAGCUGAGUUGGUUU UAU	2903	1740-1760	AUAAAACCAACUCAGCUCAG AGG	3083	1738-1760
AD-1193326.1	UCUGAGCUGAGUUGGUUU UAU	2904	1740-1760	AUAAAACCAACUCAGCUCAG AGG	3084	1738-1760
AD-1193327.1	UCUGAGCUGAGUUGGUUU UAU	2905	1740-1760	AUAAAACCAACUCAGCUCAG AGG	3085	1738-1760
AD-1193328.1	UCUGAGCUGAGUUGGUUU UAU	2906	1740-1760	AUAAAACCAACUCAGCUCAG AGG	3086	1738-1760
AD-1193329.1	UCUGAGCUGAGUUGGUUU UAU	2907	1740-1760	AUAAAACCAACUCAGCUCAG ACC	3087	1738-1760



AD-1193330.1	UCUGAGCUGAGUUGGUUU UAU	2908	1740-1760	AUAAAACCAACUCAGCUCAG ACC	3088	1738-1760
AD-1193331.1	UCUGAGCUGAGUUGGUUU UAU	2909	1740-1760	AUAAAACCAACUCAGCUCAG ACC	3089	1738-1760
AD-1193332.1	UGAGCUGAGUUGGUUUUA U	2910	1742-1760	AUAAAACCAACUCAGCUCAG C	3090	1740-1760
AD-1193333.1	UGAGCUGAGUUGGUUUUA U	2911	1742-1760	AUAAAACCAACUCAGCUCAG C	3091	1740-1760
AD-1193334.1	UGAGCUGAGUUGGUUUUA U	2912	1742-1760	AUAAAACCAACUCAGCUCAG C	3092	1740-1760
AD-1193335.1	UCUGAGCUGAGUUGGUUU UAU	2913	1740-1760	ATAAAACCAACTCAGCUCAGA GG	3093	1738-1760
AD-1193336.1	UCUGAGCUGAGUUGGUTU UAU	2914	1740-1760	ATAAAACCAACTCAGCUCAGA GG	3094	1738-1760
AD-519346.3	CCAUUAGGAUAAUGUCUU AUU	2915	1213-1233	AAUAAGACAUUAUCCUAAUG GGU	3095	1211-1233
AD-1193337.1	CCAUUAGGAUAAUGUCUU AUU	2916	1213-1233	AAUAAGACAUUAUCCUAAUG GGU	3096	1211-1233
AD-1193338.1	CCAUUAGGAUAAUGUCUU AUU	2917	1213-1233	AAUAAGACAUUAUCCUAAUG GGU	3097	1211-1233
AD-1193339.1	CCAUUAGGAUAAUGUCUU AUU	2918	1213-1233	AAUAAGACAUUAUCCUAAUG GCC	3098	1211-1233
AD-1193340.1	CCAUUAGGAUAAUGUCUU AUU	2919	1213-1233	AAUAAGACAUUAUCCUAAUG GCC	3099	1211-1233
AD-1193341.1	CCAUUAGGAUAAUGUCUU AUU	2920	1213-1233	AAUAAGACAUUAUCCUAAUG GGU	3100	1211-1233
AD-1193342.1	CCAUUAGGAUAAUGUCUU AUU	2921	1213-1233	AAUAAGACAUUAUCCUAAUG GGU	3101	1211-1233
AD-1193343.1	CCAUUAGGAUAAUGUCUU AUU	2922	1213-1233	AAUAAGACAUUAUCCUAAUG GCC	3102	1211-1233
AD-1193344.1	CCAUUAGGAUAAUGUCUU AUU	2923	1213-1233	AAUAAGACAUUAUCCUAAUG GCC	3103	1211-1233
AD-1193345.1	AUUAGGAUAAUGUCUUAU U	2924	1215-1233	AAUAAGACAUUAUCCUAAUG G	3104	1213-1233

AD-1193346.1	AUUAGGAUAAUGUCUUAU U	2925	1215-1233	AAUAAGACAUUAUCCUAAUG G	3105	1213-1233
AD-1193347.1	CCAUUAGGAUAAUGUCUUAU	2926	1213-1233	AAUAAGACAUUAUCCUAAUG GGU	3106	1211-1233
AD-1193348.1	CCAUUAGGAUAAUGUCUUAU	2927	1213-1233	AAUAAGACAUUAUCCUAAUG GGU	3107	1211-1233
AD-1193349.1	CCAUUAGGAUAAUGUCTUAU	2928	1213-1233	AAUAAGACAUUAUCCUAAUG GGU	3108	1211-1233
AD-519347.4	CAUUAGGAUAAUGUCUUAUGU	2929	1214-1234	ACAUAAAGACAUUAUCCUAAU GGG	3109	1212-1234
AD-1193350.1	CAUUAGGAUAAUGUCUUAUGU	2930	1214-1234	ACAUAAAGACAUUAUCCUAAU GGG	3110	1212-1234
AD-1193351.1	CAUUAGGAUAAUGUCUUAUGU	2931	1214-1234	ACAUAAAGACAUUAUCCUAAU GCC	3111	1212-1234
AD-1193352.1	CAUUAGGAUAAUGUCUUAUGU	2932	1214-1234	ACAUAAAGACAUUAUCCUAAU GGG	3112	1212-1234
AD-1193353.1	CAUUAGGAUAAUGUCUUAUGU	2933	1214-1234	ACAUAAAGACAUUAUCCUAAU GCC	3113	1212-1234
AD-1193354.1	UUAGGAUAAUGUCUUAUGU	2934	1216-1234	ACAUAAAGACAUUAUCCUAAU G	3114	1214-1234
AD-1193355.1	CAUUAGGATAAUGUCUUAUGU	2935	1214-1234	ACAUAAAGACAUUAUCCUAAU GGG	3115	1212-1234
AD-1193356.1	CAUUAGGATAAUGUCUTAU GU	2936	1214-1234	ACAUAAAGACAUUAUCCUAAU GGG	3116	1212-1234
AD-1193357.1	CAUUAGGAUAAUGUCUUAUGU	2937	1214-1234	ACAUAAAGACAUUAUCCUAAU GGG	3117	1212-1234
AD-1193358.1	CAUUAGGAUAAUGUCUTAUGU	2938	1214-1234	ACAUAAAGACAUUAUCCUAAU GGG	3118	1212-1234
AD-519350.4	UAGGAUAAUGUCUUAUGU AAU	2939	1217-1237	AUUACAUAAGACAUUAUCCU AAU	3119	1215-1237
AD-1193359.1	UAGGAUAAUGUCUUAUGU AAU	2940	1217-1237	AUUACATAAGACAUUAUCCU AAU	3120	1215-1237
AD-1193360.1	UAGGAUAAUGUCUUAUGU AAU	2941	1217-1237	AUUACATAAGACAUUAUCCU AAU	3121	1215-1237

AD-1193361.1	UAGGAUAAUGUCUUAUGU AAU	2942	1217-1237	AUUACATAAGACAUAUCCU AGU	3122	1215-1237
AD-1193362.1	UAGGAUAAUGUCUUAUGU AAU	2943	1217-1237	AUUACATAAGACAUAUCCU AGU	3123	1215-1237
AD-1193363.1	UAGGAUAAUGUCUUAUGU AAU	2944	1217-1237	AUUACATAAGACAUAUCCU ACC	3124	1215-1237
AD-1193364.1	UAGGAUAAUGUCUUAUGU AAU	2945	1217-1237	AUUACATAAGACAUAUCCU ACC	3125	1215-1237
AD-1193365.1	UAGGAUAAUGUCUUAUGU AAU	2946	1217-1237	AUUACATAAGACAUAUCCU AGU	3126	1215-1237
AD-1193366.1	UAGGAUAAUGUCUUAUGU AAU	2947	1217-1237	AUUACATAAGACAUAUCCU AGU	3127	1215-1237
AD-1193367.1	UAGGAUAAUGUCUUAUGU AAU	2948	1217-1237	AUUACATAAGACAUAUCCU AGU	3128	1215-1237
AD-1193368.1	UAGGAUAAUGUCUUAUGU AAU	2949	1217-1237	AUUACATAAGACAUAUCCU AGU	3129	1215-1237
AD-1193369.1	UAGGAUAAUGUCUUAUGU AAU	2950	1217-1237	AUUACATAAGACAUAUCCU AGU	3130	1215-1237
AD-1193370.1	UAGGAUAAUGUCUUAUGU AAU	2951	1217-1237	AUUACATAAGACAUAUCCU AGU	3131	1215-1237
AD-1193371.1	UAGGAUAAUGUCUUAUGU AAU	2952	1217-1237	AUUACATAAGACAUAUCCU AGU	3132	1215-1237
AD-1193372.1	UAGGAUAAUGUCUUAUGU AAU	2953	1217-1237	AUUACATAAGACAUAUCCU AGU	3133	1215-1237
AD-519757.4	CUGAGUUGGUUUUAUGAA AAU	2954	1746-1766	AUUUCAUAAAACCAACUCA GCU	3134	1744-1766
AD-1193373.1	CUGAGUUGGUUUUAUGAA AAU	2955	1746-1766	AUUUTCAUAAAACCAACUCA GCU	3135	1744-1766
AD-1193374.1	CUGAGUUGGUUUUAUGAA AAU	2956	1746-1766	AUUUTCAUAAAACCAACUCA GCU	3136	1744-1766
AD-1193375.1	CUGAGUUGGUUUUAUGAA AAU	2957	1746-1766	AUUUTCAUAAAACCAACUCA GUC	3137	1744-1766
AD-1193376.1	CUGAGUUGGUUUUAUGAA AAU	2958	1746-1766	AUUUTCAUAAAACCAACUCA GUC	3138	1744-1766

AD-1193377.1	CUGAGUUGGUUUUAUGAA AAU	2959	1746-1766	AUUUTCAUAAAACCAACUCA GCU	3139	1744-1766
AD-1193378.1	CUGAGUUGGUUUUAUGAA AAU	2960	1746-1766	AUUUTCAUAAAACCAACUCA GCU	3140	1744-1766
AD-1193379.1	CUGAGUUGGUUUUAUGAA AAU	2961	1746-1766	AUUUTCAUAAAACCAACUCA GCU	3141	1744-1766
AD-1193380.1	CUGAGUUGGUUUUAUGAA AAU	2962	1746-1766	AUUUTCAUAAAACCAACUCA GCU	3142	1744-1766
AD-1193381.1	CUGAGUUGGUUUUAUGAA AAU	2963	1746-1766	AUUUTCAUAAAACCAACUCA GUC	3143	1744-1766
AD-1193382.1	CUGAGUUGGUUUUAUGAA AAU	2964	1746-1766	AUUUTCAUAAAACCAACUCA GUC	3144	1744-1766
AD-1193383.1	GAGUUGGUUUUAUGAAAA U	2965	1748-1766	AUUUTCAUAAAACCAACUCG G	3145	1746-1766
AD-1193384.1	GAGUUGGUUUUAUGAAAA U	2966	1748-1766	AUUUTCAUAAAACCAACUCG G	3146	1746-1766
AD-1193385.1	CUGAGUUGGUUUUAUGAA AAU	2967	1746-1766	AUUUTCAUAAAACCAACUCA GCU	3147	1744-1766
AD-1193386.1	CUGAGUUGGUUUUAUGAA AAU	2968	1746-1766	AUUUTCAUAAAACCAACUCA GCU	3148	1744-1766
AD-1193387.1	CUGAGUUGGUUUUAUGAA AAU	2969	1746-1766	AUUUTCAUAAAACCAACUCA GCU	3149	1744-1766
AD-1193388.1	CUGAGUUGGUUUUAUGAA AAU	2970	1746-1766	AUUUTCAUAAAACCAACUCA GUC	3150	1744-1766
AD-1193389.1	CUGAGUUGGUUUUAUGAA AAU	2971	1746-1766	AUUUTCAUAAAACCAACUCA GUC	3151	1744-1766
AD-1193390.1	GAGUUGGUUUUAUGAAAA U	2972	1748-1766	AUUUTCAUAAAACCAACUCG G	3152	1746-1766
AD-1193391.1	GAGUUGGUUUUAUGAAAA U	2973	1748-1766	AUUUTCAUAAAACCAACUCG G	3153	1746-1766
AD-520018.9	GAUAACCUUGACUACUAA AAU	2974	2110-2130	AUUUUAGUAGUCAAGGUUAU CAU	3154	2108-2130
AD-1193392.1	GAUAACCUUGACUACUAA AAU	2975	2110-2130	AUUUTAGUAGUCAAGGUUAU CAU	3155	2108-2130

AD-1193393.1	GAUAACCUUGACUACUAA AAU	2976	2110-2130	AUUUTAGUAGUCAAGGUUUAU CAU	3156	2108-2130
AD-1193394.1	GAUAACCUUGACUACUAA AAU	2977	2110-2130	AUUUTAGUAGUCAAGGUUUAU CAU	3157	2108-2130
AD-1193395.1	GAUAACCUUGACUACUAA AAU	2978	2110-2130	AUUUTAGUAGUCAAGGUUUAU CGU	3158	2108-2130
AD-1193396.1	GAUAACCUUGACUACUAA AAU	2979	2110-2130	AUUUTAGUAGUCAAGGUUUAU CGU	3159	2108-2130
AD-1193397.1	GAUAACCUUGACUACUAA AAU	2980	2110-2130	AUUUTAGUAGUCAAGGUUUAU CGU	3160	2108-2130
AD-1193398.1	GAUAACCUUGACUACUAA AAU	2981	2110-2130	AUUUUAGUAGUCAAGGUUUAU CAU	3161	2108-2130
AD-1193399.1	GAUAACCUUGACUACUAA AAU	2982	2110-2130	AUUUTAGUAGUCAAGGUUUAU CAU	3162	2108-2130
AD-1193400.1	GAUAACCUUGACUACUAA AAU	2983	2110-2130	AUUUTAGUAGUCAAGGUUUAU CAU	3163	2108-2130
AD-1193401.1	GAUAACCUUGACUACUAA AAU	2984	2110-2130	AUUUTAGUAGUCAAGGUUUAU CAU	3164	2108-2130
AD-1193402.1	GAUAACCUUGACUACUAA AAU	2985	2110-2130	AUUUTAGUAGUCAAGGUUUAU CGU	3165	2108-2130
AD-1193403.1	GAUAACCUUGACUACUAA AAU	2986	2110-2130	AUUUTAGUAGUCAAGGUUUAU CGU	3166	2108-2130
AD-1193404.1	GAUAACCUUGACUACUAA AAU	2987	2110-2130	AUUUTAGUAGUCAAGGUUUAU CGU	3167	2108-2130
AD-1193405.1	UAACCUUGACUACUAAAA U	2988	2112-2130	AUUUTAGUAGUCAAGGUUUAU C	3168	2110-2130
AD-1193406.1	UAACCUUGACUACUAAAA U	2989	2112-2130	AUUUTAGUAGUCAAGGUUUAU C	3169	2110-2130
AD-1193407.1	UAACCUUGACUACUAAAA U	2990	2112-2130	AUUUTAGUAGUCAAGGUUUAU C	3170	2110-2130
AD-520053.5	UUUUAGAACACCUUUUUC ACU	2991	2171-2191	AGUGAAAAAGGUGUUCUAAA AUU	3171	2169-2191
AD-1193408.1	UUUUAGAACACCUUUUUC ACU	2992	2171-2191	AGUGAAAAAGGUGUUCUAAA AUU	3172	2169-2191

AD-1193409.1	UUUUAGAACACCUUUUUC ACU	2993	2171-2191	AGUGAAAAAGGUGUUCUAAA AUU	3173	2169-2191
AD-1193410.1	UUUUAGAACACCUUUUUC ACU	2994	2171-2191	AGUGAAAAAGGTGUUCUAAA AUU	3174	2169-2191
AD-1193411.1	UUUUAGAACACCUUUUUC ACU	2995	2171-2191	AGUGAAAAAGGUGUUCUAAA ACC	3175	2169-2191
AD-1193412.1	UUUUAGAACACCUUUUUC ACU	2996	2171-2191	AGUGAAAAAGGUGUUCUAAA ACC	3176	2169-2191
AD-1193413.1	UUUUAGAACACCUUUUUC ACU	2997	2171-2191	AGUGAAAAAGGTGUUCUAAA ACC	3177	2169-2191
AD-1193414.1	UUUUAGAACACCUUUUUC ACU	2998	2171-2191	AGUGAAAAAGGUGUUCUAAA AUU	3178	2169-2191
AD-1193415.1	UUUUAGAACACCUUUUUC ACU	2999	2171-2191	AGUGAAAAAGGUGUUCUAAA AUU	3179	2169-2191
AD-1193416.1	UUUUAGAACACCUUUUUC ACU	3000	2171-2191	AGUGAAAAAGGUGUUCUAAA AUU	3180	2169-2191
AD-1193417.1	UUUUAGAACACCUUUUUC ACU	3001	2171-2191	AGUGAAAAAGGTGUUCUAAA AUU	3181	2169-2191
AD-1193418.1	UUUUAGAACACCUUUUUC ACU	3002	2171-2191	AGUGAAAAAGGUGUUCUAAA AUU	3182	2169-2191
AD-1193419.1	UUUUAGAACACCUUUUUC ACU	3003	2171-2191	AGUGAAAAAGGUGUUCUAAA AUU	3183	2169-2191
AD-1193420.1	UUUUAGAACACCUUUUUC ACU	3004	2171-2191	AGUGAAAAAGGUGUUCUAAA AUU	3184	2169-2191
AD-1193421.1	UUUUAGAACACCUUUUUC ACU	3005	2171-2191	AGUGAAAAAGGTGUUCUAAA AUU	3185	2169-2191
AD-1193422.1	GUGGAAUCUGCCAUUGCG A	3006	1257-1275	UCGCAATGGCAGAUUCCACA G	3186	1255-1275
AD-1193423.1	GUGGAAUCUGCCAUUGCG A	3007	1257-1275	UCGCAATGGCAGAUUCCACG G	3187	1255-1275
AD-1193424.1	UGGAAUCUGCCAUUGCGA U	3008	1258-1276	AUCGCAAUGGCAGAUUCCAC A	3188	1256-1276
AD-1193425.1	UGGAAUCUGCCAUUGCGA U	3009	1258-1276	AUCGCAAUGGCAGAUUCCAC G	3189	1256-1276

AD-1193426.1	GGAAUCUGCCA UUGCGAU U	3010	1259-1277	AAUCGCAAUGGCAGAUUCCA C	3190	1257-1277
AD-1193427.1	GGAAUCUGCCA UUGCGAU U	3011	1259-1277	AAUCGCAAUGGCAGAUUCCG C	3191	1257-1277
AD-1193428.1	GAAUCUGCCA UUGCGAUU U	3012	1260-1278	AAAUCGCAAUGGCAGAUUCC A	3192	1258-1278
AD-1193429.1	GAAUCUGCCA UUGCGAUU U	3013	1260-1278	AAAUCGCAAUGGCAGAUUCC G	3193	1258-1278
AD-1193430.1	AAUCUGCCA UUGCGAUUG U	3014	1261-1279	ACAATCGCAAUGGCAGAUUC C	3194	1259-1279
AD-1193431.1	AAUCUGCCA UUGCGAUUG U	3015	1261-1279	ACAATCGCAAUGGCAGAUUC C	3195	1259-1279
AD-1193432.1	AUCUGCCA UUGCGAUUGU U	3016	1262-1280	AACAAUCGCAAUGGCAGAUU C	3196	1260-1280
AD-1193433.1	AUCUGCCA UUGCGAUUGU U	3017	1262-1280	AACAAUCGCAATGGCAGAUU C	3197	1260-1280
AD-1193434.1	UCUGCCA UUGCGAUUGUC U	3018	1263-1281	AGACAATCGCAAUGGCAGAU U	3198	1261-1281
AD-1193435.1	UCUGCCA UUGCGAUUGUC U	3019	1263-1281	AGACAATCGCAAUGGCAGAU U	3199	1261-1281
AD-1193436.1	CUGCCA UUGCGAUUGUCCA U	3020	1264-1282	UGGACAAUCGCAAUGGCAGA U	3200	1262-1282
AD-1193437.1	CUGCCA UUGCGAUUGUCCA U	3021	1264-1282	UGGACAAUCGCAAUGGCAGA U	3201	1262-1282
AD-1193438.1	UGCCA UUGCGAUUGUCCA U	3022	1265-1283	AUGGACAAUCGCAAUGGCAG A	3202	1263-1283
AD-1193439.1	UGCCA UUGCGAUUGUCCA U	3023	1265-1283	AUGGACAAUCGCAAUGGCAG G	3203	1263-1283
AD-1193440.1	GCCA UUGCGAUUGUCCAG A	3024	1266-1284	UCUGGACAAUCGCAAUGGCG G	3204	1264-1284
AD-805631.3	CCA UUGCGAUUGUCCAGA U	3025	1267-1285	AUCUGGACAAUCGCAAUGG G	3205	1267-1285
AD-1193441.1	CCA UUGCGAUUGUCCAGA U	3026	1267-1285	AUCUGGACAAUCGCAAUGG G	3206	1267-1285

AD-1193442.1	CCAUGCGAUUGUCCAGAU	3027	1267-1285	AUCUGGACAAUCGCAAUGGCA	3207	1265-1285
AD-1193443.1	CCAUGCGAUUGUCCAGAU	3028	1267-1285	AUCUGGACAAUCGCAAUGGCG	3208	1265-1285
AD-1193444.1	CAUUGCGAUUGUCCAGAGA	3029	1268-1286	UCUCTGGACAAUCGCAAUGGC	3209	1266-1286
AD-1193445.1	AUUGCGAUUGUCCAGAGAU	3030	1269-1287	AUCUCUGGACAAUCGCAAUGG	3210	1267-1287
AD-1193446.1	CAUUGCGAUUGUCCAGAGACU	3031	1268-1288	AGUCTCTGGACAAUCGCAAUGGC	3211	1266-1288
AD-1193447.1	UGCGAUUGUCCAGAGACU	3032	1271-1289	AAGUCUCUGGACAAUCGCAGU	3212	1269-1289
AD-1193448.1	GCGAUUGUCCAGAGACUGU	3033	1272-1290	ACAGTCTCUGGACAAUCGCAA	3213	1270-1290
AD-1193449.1	UUGCGAUUGUCCAGAGACUGU	3034	1270-1290	ACAGTCTCUGGACAAUCGCAAUG	3214	1268-1290
AD-1193450.1	CGAUUGUCCAGAGACUGGU	3035	1273-1291	ACCAGUCUCUGGACAAUCGC	3215	1271-1291
AD-1193451.1	CGAUUGUCCAGAGACUGGU	3036	1273-1291	ACCAGUCUCUGGACAAUCGC	3216	1271-1291
AD-1193452.1	GAUUGUCCAGAGACUGGU	3037	1274-1292	AACCAGTCUCUGGACAAUCGC	3217	1272-1292
AD-1193452.2	GAUUGUCCAGAGACUGGU	3038	1274-1292	AACCAGTCUCUGGACAAUCGC	3218	1272-1292
AD-1193453.1	AUUGUCCAGAGACUGGUGA	3039	1275-1293	UCACCAGUCUCUGGACAAUCG	3219	1273-1293
AD-1193454.1	AUUGUCCAGAGACUGGUGA	3040	1275-1293	UCACCAGUCUCTGGACAAUCG	3220	1273-1293
AD-1193455.1	UUGUCCAGAGACUGGUGAU	3041	1276-1294	AUCACCAGUCUCUGGACAAUC	3221	1274-1294
AD-1193456.1	UUGUCCAGAGACUGGUGAU	3042	1276-1294	AUCACCAGUCUCUGGACAAUC	3222	1274-1294
AD-1193457.1	UGUCCAGAGACUGGUGACA	3043	1277-1295	UGUCACCAGUCTCUGGACAGU	3223	1275-1295



AD-1193458.1	UGGUUUUAUGAAAAGCUA GGA	3044	1752-1772	UCCUAGCUUUUCAUAAAACC AAC	3224	1750-1772
AD-1193459.1	UGGUUUUAUGAAAAGCUA GGA	3045	1752-1772	UCCUAGCUUUUCAUAAAACC AGC	3225	1750-1772
AD-1193460.1	GGUUUUUAUGAAAAGCUAG GAA	3046	1753-1773	UUCCTAGCUUUUCAUAAAAC CGG	3226	1751-1773
AD-1193461.1	GUUUUAUGAAAAGCUAGG AAU	3047	1754-1774	AUUCCUAGCUUUUCAUAAAA CCA	3227	1752-1774
AD-1193462.1	GUUUUAUGAAAAGCUAGG AAU	3048	1754-1774	AUUCCUAGCUUUUCAUAAAA CCG	3228	1752-1774
AD-1193463.1	UUUUAUGAAAAGCUAGGA AGU	3049	1755-1775	ACUUCCTAGCUUUUCAUAAA ACC	3229	1753-1775
AD-1193464.1	UUUAUGAAAAGCUAGGAA GCA	3050	1756-1776	UGCUTCCUAGCUUUUCAUAA AGC	3230	1754-1776
AD-1193465.1	UUAUGAAAAGCUAGGAAG CAA	3051	1757-1777	UUGCTUCCUAGCUUUUCAUA AGG	3231	1755-1777
AD-1193466.1	UAUGAAAAGCUAGGAAGC AAU	3052	1758-1778	AUUGCUTCCUAGCUUUUCAU AGG	3232	1756-1778
AD-1193467.1	AUGAAAAGCUAGGAAGCA ACU	3053	1759-1779	AGUUGCTUCCUAGCUUUUCA UGG	3233	1757-1779
AD-1193468.1	UGAAAAGCTAGGAAGCAA CCU	3054	1760-1780	AGGUTGCUUCCTAGCUUUUCA UG	3234	1758-1780
AD-1193469.1	GAAAAGCUAGGAAGCAAC CUU	3055	1761-1781	AAGGTUGCUUCCUAGCUUUU CGU	3235	1759-1781
AD-519773.3	AAAAGCUAGGAAGCAACC UUU	3056	1762-1782	AAAGGUUGCUUCCUAGCUUU UCA	3236	1760-1782
AD-1193470.1	AAAAGCUAGGAAGCAACC UUU	3057	1762-1782	AAAGGUTGCUUCCUAGCUUU UCA	3237	1760-1782
AD-1193471.1	AAAAGCUAGGAAGCAACC UUU	3058	1762-1782	AAAGGUTGCUUCCUAGCUUU UCG	3238	1760-1782
AD-1193472.1	AAAGCUAGGAAGCAACCU UUU	3059	1763-1783	AAAAGGTUGCUUCCUAGCUU UUC	3239	1761-1783
AD-1193473.1	AAGCUAGGAAGCAACCUU UCU	3060	1764-1784	AGAAAGGUUGCUUCCUAGCU UUU	3240	1762-1784

AD-1193474.1	AGCUAGGAAGCAACCUUU CGU	3061	1765-1785	ACGAAAGGUUGCUUCCUAGC UUU	3241	1763-1785
AD-1193475.1	CUAGGAAGCAACCUUUCG U	3062	1767-1785	ACGAAAGGUUGCUUCCUAGC U	3242	1765-1785
AD-1193476.1	GCUAGGAAGCAACCUUUC GCU	3063	1766-1786	AGCGAAAGGUUGCUUCCUAG CUU	3243	1764-1786
AD-1193477.1	UAGGAAGCAACCUUUCGC U	3064	1768-1786	AGCGAAAGGUUGCUUCCUAG C	3244	1766-1786
AD-1193478.1	CUAGGAAGCAACCUUUCGC CU	3065	1767-1787	AGGCGAAAGGUUGCUUCCUA GCU	3245	1765-1787
AD-1193479.1	AGGAAGCAACCUUUCGCCU	3066	1769-1787	AGGCGAAAGGUUGCUUCCUG G	3246	1767-1787
AD-1193480.1	UAGGAAGCAACCUUUCGCC UU	3067	1768-1788	AAGGCGAAAGGUUGCUUCCU AGC	3247	1766-1788
AD-1193481.1	GGAAGCAACCUUUCGCCUU	3068	1770-1788	AAGGCGAAAGGTUGCUUCCU G	3248	1768-1788
AD-1193482.1	AGGAAGCAACCUUUCGCCU GU	3069	1769-1789	ACAGGCGAAAGGUUGCUUCC UAG	3249	1767-1789
AD-1193483.1	GAAGCAACCUUUCGCCUGU	3070	1771-1789	ACAGGCGAAAGGUUGCUUCC U	3250	1769-1789
AD-1193484.1	AAGCAACCUUUCGCCUGUU	3071	1772-1790	AACAGGCGAAAGGUUGCUUC C	3251	1770-1790
AD-1193485.1	AGCAACCUUUCGCCUGUGU	3072	1773-1791	ACACAGGCGAAAGGUUGCUU C	3252	1771-1791
AD-1193486.1	GCAACCUUUCGCCUGUGCA	3073	1774-1792	UGCACAGGCGAAAGGUUGCU U	3253	1772-1792

**Таблица 50. Модифицированные последовательности смысловой и антисмысловой цепей средств на основе дсРНК PNPLA3**

Название дуплекса	Смысловая последовательность от 5' до 3'	SEQ ID NO:	Антисмысловая последовательность от 5' до 3'	SEQ ID NO:	целевая последовательность мРНК	SEQ ID NO:
AD-67554.9	uscsugagCfuGfAfGfuugguuuuau L96	325 4	asUfsaaaAfcCfAfacucAfgCfucagasgsg	343 4	CCUCUGAGCUGAGUU GGUUUUAU	361 4

AD-1193317.1	uscsugagCfuGfAfGfuugguuuuauL96	325 5	asUfsaadAadCcaacucAfgCfucagasgsg	343 5	CCUCUGAGCUGAGUU GGUUUUAU	361 5
AD-1193318.1	uscsugagCfuGfAfGfuugguuuuauL96	325 6	asdTsaadAadCcaacdTcdAgdCucagasgsg	343 6	CCUCUGAGCUGAGUU GGUUUUAU	361 6
AD-1193319.1	uscsugagCfuGfAfGfuugguuuuauL96	325 7	asUfsaadAadCcaacucAfgCfucagascsc	343 7	CCUCUGAGCUGAGUU GGUUUUAU	361 7
AD-1193320.1	uscsugagCfuGfAfGfuugguuuuauL96	325 8	asdTsaadAadCcaacdTcdAgdCucagascsc	343 8	CCUCUGAGCUGAGUU GGUUUUAU	361 8
AD-1193321.1	usgsagCfuGfAfGfuugguuuuauL96	325 9	asUfsaadAadCcaacucAfgCfucasgsc	343 9	UCUGAGCUGAGUUGG UUUUAU	361 9
AD-1193322.1	usgsagCfuGfAfGfuugguuuuauL96	326 0	asdTsaadAadCcaacdTcdAgdCucasgsc	344 0	UCUGAGCUGAGUUGG UUUUAU	362 0
AD-1193323.1	uscsugagCfudGadGuugguuuuauL96	326 1	asUfsaaaAfcCfAfacucAfgCfucagasgsg	344 1	CCUCUGAGCUGAGUU GGUUUUAU	362 1
AD-1193324.1	uscsugagCfugAfdGuugguuuuauL96	326 2	asUfsaaaAfcCfAfacucAfgCfucagasgsg	344 2	CCUCUGAGCUGAGUU GGUUUUAU	362 2
AD-1193325.1	uscsugagCfugadGUfugguuuuauL96	326 3	asUfsaaaAfcCfAfacucAfgCfucagasgsg	344 3	CCUCUGAGCUGAGUU GGUUUUAU	362 3
AD-1193326.1	uscsugagCfudGadGuugguuuuauL96	326 4	asUfsaadAadCcaacucAfgCfucagasgsg	344 4	CCUCUGAGCUGAGUU GGUUUUAU	362 4
AD-1193327.1	uscsugagCfugAfdGuugguuuuauL96	326 5	asUfsaadAadCcaacucAfgCfucagasgsg	344 5	CCUCUGAGCUGAGUU GGUUUUAU	362 5
AD-1193328.1	uscsugagCfugadGUfugguuuuauL96	326 6	asUfsaadAadCcaacucAfgCfucagasgsg	344 6	CCUCUGAGCUGAGUU GGUUUUAU	362 6
AD-1193329.1	uscsugagCfudGadGuugguuuuauL96	326 7	asUfsaadAadCcaacucAfgCfucagascsc	344 7	CCUCUGAGCUGAGUU GGUUUUAU	362 7
AD-1193330.1	uscsugagCfugAfdGuugguuuuauL96	326 8	asUfsaadAadCcaacucAfgCfucagascsc	344 8	CCUCUGAGCUGAGUU GGUUUUAU	362 8
AD-1193331.1	uscsugagCfugadGUfugguuuuauL96	326 9	asUfsaadAadCcaacucAfgCfucagascsc	344 9	CCUCUGAGCUGAGUU	362

					GGUUUUAU	9
AD-1193332.1	usgsagCfudGadGuugguuuuauL96	327 0	asUfsaadAadCcaacucAfgCfucasgsc	345 0	UCUGAGCUGAGUUGG UUUUAU	363 0
AD-1193333.1	usgsagCfugAfdGuugguuuuauL96	327 1	asUfsaadAadCcaacucAfgCfucasgsc	345 1	UCUGAGCUGAGUUGG UUUUAU	363 1
AD-1193334.1	usgsagCfugadGUfugguuuuauL96	327 2	asUfsaadAadCcaacucAfgCfucasgsc	345 2	UCUGAGCUGAGUUGG UUUUAU	363 2
AD-1193335.1	uscsugagcudGadGuugguuuuauL96	327 3	asdTsaadAadCcaacdTcdAgdCucagasgsg	345 3	CCUCUGAGCUGAGUU GGUUUUAU	363 3
AD-1193336.1	uscsugagcudGadGuuggudTuuauL96	327 4	asdTsaaaadCcaacdTcdAgdCucagasgsg	345 4	CCUCUGAGCUGAGUU GGUUUUAU	363 4
AD-519346.3	cscsauuaGfgAfUfAfaugucuuuuL96	327 5	asAfsuaaGfaCfAfuuauCfcUfaauggsgsu	345 5	ACCCAUUAGGAUAAU GUCUUAUG	363 5
AD-1193337.1	cscsauuaGfgAfUfAfaugucuuuuL96	327 6	asAfsuadAgdAcauuauCfcUfaauggsgsu	345 6	ACCCAUUAGGAUAAU GUCUUAUG	363 6
AD-1193338.1	cscsauuaGfgAfUfAfaugucuuuuL96	327 7	asdAsuadAgdAcauuauCfcUfaauggsgsu	345 7	ACCCAUUAGGAUAAU GUCUUAUG	363 7
AD-1193339.1	cscsauuaGfgAfUfAfaugucuuuuL96	327 8	asAfsuadAgdAcauuauCfcUfaauggscsc	345 8	ACCCAUUAGGAUAAU GUCUUAUG	363 8
AD-1193340.1	cscsauuaGfgAfUfAfaugucuuuuL96	327 9	asdAsuadAgdAcauuauCfcUfaauggscsc	345 9	ACCCAUUAGGAUAAU GUCUUAUG	363 9
AD-1193341.1	cscsauuaggAfUfAfaugucuuuuL96	328 0	asAfsuadAgdAcauuauCfcUfaauggsgsu	346 0	ACCCAUUAGGAUAAU GUCUUAUG	364 0
AD-1193342.1	cscsauuaggAfUfAfaugucuuuuL96	328 1	asdAsuadAgdAcauuauCfcUfaauggsgsu	346 1	ACCCAUUAGGAUAAU GUCUUAUG	364 1
AD-1193343.1	cscsauuaggAfUfAfaugucuuuuL96	328 2	asAfsuadAgdAcauuauCfcUfaauggscsc	346 2	ACCCAUUAGGAUAAU GUCUUAUG	364 2
AD-1193344.1	cscsauuaggAfUfAfaugucuuuuL96	328 3	asdAsuadAgdAcauuauCfcUfaauggscsc	346 3	ACCCAUUAGGAUAAU GUCUUAUG	364 3

AD-1193345.1	asusuaggAfUfAfaugucuuaauL96	328 4	asAfsuadAgdAcuuauCfcUfaausgsg	346 4	CCAUUAGGAUAAUGU CUUAUG	364 4
AD-1193346.1	asusuaggAfUfAfaugucuuaauL96	328 5	asdAsuadAgdAcuuauCfcUfaausgsg	346 5	CCAUUAGGAUAAUGU CUUAUG	364 5
AD-1193347.1	cscsauuaggdAudAaugucuuaauL96	328 6	asAfsuadAgdAcuuauCfcUfaauggsgsu	346 6	ACCCAUAAGGAUAAU GUCUUAUG	364 6
AD-1193348.1	cscsauuaggdAudAaugucuuaauL96	328 7	asdAsuadAgdAcuuauCfcUfaauggsgsu	346 7	ACCCAUAAGGAUAAU GUCUUAUG	364 7
AD-1193349.1	cscsauuaggdAudAaugucdTuauuL96	328 8	asdAsuaagdAcuuauCfcUfaauggsgsu	346 8	ACCCAUAAGGAUAAU GUCUUAUG	364 8
AD-519347.4	csasuuagGfaUfAfAfugucuuauguL96	328 9	asCfsauaAfgAfCfauuaUfcCfuaaugsgsg	346 9	CCCAUUAGGAUAAUG UCUUAUGU	364 9
AD-1193350.1	csasuuagGfaUfAfAfugucuuauguL96	329 0	asCfsaudAadGacauuaUfcCfuaaugsgsg	347 0	CCCAUUAGGAUAAUG UCUUAUGU	365 0
AD-1193351.1	csasuuagGfaUfAfAfugucuuauguL96	329 1	asCfsaudAadGacauuaUfcCfuaaugscsc	347 1	CCCAUUAGGAUAAUG UCUUAUGU	365 1
AD-1193352.1	csasuuaggaUfAfAfugucuuauguL96	329 2	asCfsaudAadGacauuaUfcCfuaaugsgsg	347 2	CCCAUUAGGAUAAUG UCUUAUGU	365 2
AD-1193353.1	csasuuaggaUfAfAfugucuuauguL96	329 3	asCfsaudAadGacauuaUfcCfuaaugscsc	347 3	CCCAUUAGGAUAAUG UCUUAUGU	365 3
AD-1193354.1	ususaggaUfAfAfugucuuauguL96	329 4	asCfsaudAadGacauuaUfcCfuaasusg	347 4	CAUUAGGAUAAUGUC UUAUGU	365 4
AD-1193355.1	csasuuaggadTadAugucuuauguL96	329 5	asCfsaudAadGacauuaUfcCfuaaugsgsg	347 5	CCCAUUAGGAUAAUG UCUUAUGU	365 5
AD-1193356.1	csasuuaggadTadAugucudTauguL96	329 6	asCfsauaadGacauuaUfcCfuaaugsgsg	347 6	CCCAUUAGGAUAAUG UCUUAUGU	365 6
AD-1193357.1	csasuuaggauadAUfgucuuauguL96	329 7	asCfsaudAadGacauuaUfcCfuaaugsgsg	347 7	CCCAUUAGGAUAAUG UCUUAUGU	365 7
AD-1193358.1	csasuuaggauadAUfgucudTauguL96	329 8	asCfsauaadGacauuaUfcCfuaaugsgsg	347 8	CCCAUUAGGAUAAUG	365

					UCUUAUGU	8
AD-519350.4	usasggauAfaUfGfUfcuuauguaauL96	3299	asUfsuacAfuAfAfgacaUfuAfuccuasasu	3479	AUUAGGAUAAUGUCU UAUGUAAU	3659
AD-1193359.1	usasggauAfaUfGfUfcuuauguaauL96	3300	asUfsuadCadTaagacaUfuAfuccuasasu	3480	AUUAGGAUAAUGUCU UAUGUAAU	3660
AD-1193360.1	usasggauAfaUfGfUfcuuauguaauL96	3301	asUfsuadCadTaagacaUfudAuccuasasu	3481	AUUAGGAUAAUGUCU UAUGUAAU	3661
AD-1193361.1	usasggauAfaUfGfUfcuuauguaauL96	3302	asUfsuadCadTaagacaUfuAfuccuasgsu	3482	AUUAGGAUAAUGUCU UAUGUAAU	3662
AD-1193362.1	usasggauAfaUfGfUfcuuauguaauL96	3303	asUfsuadCadTaagacaUfudAuccuasgsu	3483	AUUAGGAUAAUGUCU UAUGUAAU	3663
AD-1193363.1	usasggauAfaUfGfUfcuuauguaauL96	3304	asUfsuadCadTaagacaUfuAfuccuasasc	3484	AUUAGGAUAAUGUCU UAUGUAAU	3664
AD-1193364.1	usasggauAfaUfGfUfcuuauguaauL96	3305	asUfsuadCadTaagacaUfudAuccuasasc	3485	AUUAGGAUAAUGUCU UAUGUAAU	3665
AD-1193365.1	usasggauaaUfgUfcuuauguaauL96	3306	asUfsuadCadTaagacaUfuAfuccuasgsu	3486	AUUAGGAUAAUGUCU UAUGUAAU	3666
AD-1193366.1	usasggauaaUfgUfcuuauguaauL96	3307	asUfsuadCadTaagacaUfudAuccuasgsu	3487	AUUAGGAUAAUGUCU UAUGUAAU	3667
AD-1193367.1	usasggauaaUfgUfcuuauguaauL96	3308	asUfsuadCadTaagadCaUfuAfuccuasgsu	3488	AUUAGGAUAAUGUCU UAUGUAAU	3668
AD-1193368.1	usasggauaaUfgUfcuuauguaauL96	3309	asUfsuadCadTaagadCaUfudAuccuasgsu	3489	AUUAGGAUAAUGUCU UAUGUAAU	3669
AD-1193369.1	usasggauaaUfgUfCfuuauL96	3310	asUfsuadCadTaagacaUfuAfuccuasgsu	3490	AUUAGGAUAAUGUCU UAUGUAAU	3670
AD-1193370.1	usasggauaaUfgUfCfuuauL96	3311	asUfsuadCadTaagacaUfudAuccuasgsu	3491	AUUAGGAUAAUGUCU UAUGUAAU	3671
AD-1193371.1	usasggauaaUfgUfCfuuauL96	3312	asUfsuadCadTaagadCaUfuAfuccuasgsu	3492	AUUAGGAUAAUGUCU UAUGUAAU	3672

AD-1193372.1	usasggauaaUfgUfCfuuauL96	3313	asUfsuadCadTaagadCaUfudAuccuasgsu	3493	AUUAGGAUAAUGUCU UAUGUAAU	3673
AD-519757.4	csusgaguUfgGfUfUfuuauL96	3314	asUfsuuuCfaUfAfaaacCfaAfcucagscsu	3494	AGCUGAGUUGGUUUU AUGAAAAG	3674
AD-1193373.1	csusgaguUfgGfUfUfuuauL96	3315	asUfsuudTc(Agn)uaaaacCfaAfcucagscsu	3495	AGCUGAGUUGGUUUU AUGAAAAG	3675
AD-1193374.1	csusgaguUfgGfUfUfuuauL96	3316	asUfsuudTc(Agn)uaaaacCfadAcucagscsu	3496	AGCUGAGUUGGUUUU AUGAAAAG	3676
AD-1193375.1	csusgaguUfgGfUfUfuuauL96	3317	asUfsuudTc(Agn)uaaaacCfaAfcucagsusc	3497	AGCUGAGUUGGUUUU AUGAAAAG	3677
AD-1193376.1	csusgaguUfgGfUfUfuuauL96	3318	asUfsuudTc(Agn)uaaaacCfadAcucagsusc	3498	AGCUGAGUUGGUUUU AUGAAAAG	3678
AD-1193377.1	csusgaguUfggUfUfuuauL96	3319	asUfsuudTc(Agn)uaaaacCfaAfcucagscsu	3499	AGCUGAGUUGGUUUU AUGAAAAG	3679
AD-1193378.1	csusgaguUfggUfUfuuauL96	3320	asUfsuudTc(Agn)uaaaacCfadAcucagscsu	3500	AGCUGAGUUGGUUUU AUGAAAAG	3680
AD-1193379.1	csusgaguUfggUfUfuuauL96	3321	asUfsuudTc(A2p)uaaaacCfaAfcucagscsu	3501	AGCUGAGUUGGUUUU AUGAAAAG	3681
AD-1193380.1	csusgaguUfggUfUfuuauL96	3322	asUfsuudTc(A2p)uaaaacCfadAcucagscsu	3502	AGCUGAGUUGGUUUU AUGAAAAG	3682
AD-1193381.1	csusgaguUfggUfUfuuauL96	3323	asUfsuudTc(Agn)uaaaacCfaAfcucagsusc	3503	AGCUGAGUUGGUUUU AUGAAAAG	3683
AD-1193382.1	csusgaguUfggUfUfuuauL96	3324	asUfsuudTc(Agn)uaaaacCfadAcucagsusc	3504	AGCUGAGUUGGUUUU AUGAAAAG	3684
AD-1193383.1	gsasguUfggUfUfuuauL96	3325	asUfsuudTc(Agn)uaaaacCfaAfcucsgsg	3505	CUGAGUUGGUUUUAU GAAAAG	3685
AD-1193384.1	gsasguUfggUfUfuuauL96	3326	asUfsuudTc(Agn)uaaaacCfadAcucsgsg	3506	CUGAGUUGGUUUUAU GAAAAG	3686
AD-1193385.1	csusgaguUfggUfUfuuauL96	3327	asUfsuudTc(Agn)uaaaacCfaAfcucagscsu	3507	AGCUGAGUUGGUUUU	368

					AUGAAAAG	7
AD-1193386.1	csusgaguUfggUfUfUfuaugaaaauL96	3328	asUfsuudTc(Agn)uaaaacCfadAcucagscsu	3508	AGCUGAGUUGGUUUU AUGAAAAG	3688
AD-1193387.1	csusgaguUfggUfUfUfuaugaaaauL96	3329	asUfsuudTc(A2p)uaaaacCfadAcucagscsu	3509	AGCUGAGUUGGUUUU AUGAAAAG	3689
AD-1193388.1	csusgaguUfggUfUfUfuaugaaaauL96	3330	asUfsuudTc(Agn)uaaaacCfaAfcucagsusc	3510	AGCUGAGUUGGUUUU AUGAAAAG	3690
AD-1193389.1	csusgaguUfggUfUfUfuaugaaaauL96	3331	asUfsuudTc(Agn)uaaaacCfadAcucagsusc	3511	AGCUGAGUUGGUUUU AUGAAAAG	3691
AD-1193390.1	gsasguUfggUfUfUfuaugaaaauL96	3332	asUfsuudTc(Agn)uaaaacCfaAfcucsgsg	3512	CUGAGUUGGUUUUAU GAAAAG	3692
AD-1193391.1	gsasguUfggUfUfUfuaugaaaauL96	3333	asUfsuudTc(Agn)uaaaacCfadAcucsgsg	3513	CUGAGUUGGUUUUAU GAAAAG	3693
AD-520018.9	gsasuaacCfuUfGfAfcuacuaaaaauL96	3334	asUfsuuuAfgUfAfgucaAfgGfuuaucsasu	3514	AUGAUAACCUUGACU ACUAAAAA	3694
AD-1193392.1	gsasuaacCfuUfGfAfcuacuaaaaauL96	3335	asUfsuudTa(G2p)uagucaAfgGfuuaucsasu	3515	AUGAUAACCUUGACU ACUAAAAA	3695
AD-1193393.1	gsasuaacCfuUfGfAfcuacuaaaaauL96	3336	asUfsuudTa(G2p)uagucaAfgdGuuaucsasu	3516	AUGAUAACCUUGACU ACUAAAAA	3696
AD-1193394.1	gsasuaacCfuUfGfAfcuacuaaaaauL96	3337	asUfsuudTa(G2p)uagudCaAfgdGuuaucsu	3517	AUGAUAACCUUGACU ACUAAAAA	3697
AD-1193395.1	gsasuaacCfuUfGfAfcuacuaaaaauL96	3338	asUfsuudTa(G2p)uagucaAfgGfuuaucsgsu	3518	AUGAUAACCUUGACU ACUAAAAA	3698
AD-1193396.1	gsasuaacCfuUfGfAfcuacuaaaaauL96	3339	asUfsuudTa(G2p)uagucaAfgdGuuaucsgsu	3519	AUGAUAACCUUGACU ACUAAAAA	3699
AD-1193397.1	gsasuaacCfuUfGfAfcuacuaaaaauL96	3340	asUfsuudTa(G2p)uagudCaAfgdGuuaucsgsu	3520	AUGAUAACCUUGACU ACUAAAAA	3700
AD-1193398.1	gsasuaacCfuUfgAfcuacuaaaaauL96	3341	asUfsuuuAfgUfAfgucaAfgGfuuaucsasu	3521	AUGAUAACCUUGACU ACUAAAAA	3701



AD-1193399.1	gsasuaacCfuUfgAfcuacuaaaauL96	3342	asUfsuudTa(G2p)uagucaAfgGfuuaucsasu	3522	AUGAUAACCUUGACU ACUAAAAA	3702
AD-1193400.1	gsasuaacCfuUfgAfcuacuaaaauL96	3343	asUfsuudTa(G2p)uagucaAfgdGuuaucsasu	3523	AUGAUAACCUUGACU ACUAAAAA	3703
AD-1193401.1	gsasuaacCfuUfgAfcuacuaaaauL96	3344	asUfsuudTa(G2p)uagudCaAfgdGuuaucsasu	3524	AUGAUAACCUUGACU ACUAAAAA	3704
AD-1193402.1	gsasuaacCfuUfgAfcuacuaaaauL96	3345	asUfsuudTa(G2p)uagucaAfgGfuuaucsgsu	3525	AUGAUAACCUUGACU ACUAAAAA	3705
AD-1193403.1	gsasuaacCfuUfgAfcuacuaaaauL96	3346	asUfsuudTa(G2p)uagucaAfgdGuuaucsgsu	3526	AUGAUAACCUUGACU ACUAAAAA	3706
AD-1193404.1	gsasuaacCfuUfgAfcuacuaaaauL96	3347	asUfsuudTa(G2p)uagudCaAfgdGuuaucsgsu	3527	AUGAUAACCUUGACU ACUAAAAA	3707
AD-1193405.1	usasacCfuUfgAfcuacuaaaauL96	3348	asUfsuudTa(G2p)uagucaAfgGfuuasusc	3528	GAUAACCUUGACUAC UAAAAA	3708
AD-1193406.1	usasacCfuUfgAfcuacuaaaauL96	3349	asUfsuudTa(G2p)uagucaAfgdGuuasusc	3529	GAUAACCUUGACUAC UAAAAA	3709
AD-1193407.1	usasacCfuUfgAfcuacuaaaauL96	3350	asUfsuudTa(G2p)uagudCaAfgdGuuasusc	3530	GAUAACCUUGACUAC UAAAAA	3710
AD-520053.5	ususuuagAfaCfAfCfcuuuuucacuL96	3351	asGfsugaAfaAfAfggugUfuCfuaaaasusu	3531	AAUUUUAGAACACCU UUUUCACC	3711
AD-1193408.1	ususuuagAfaCfAfCfcuuuuucacuL96	3352	asGfsugdAadAaaggugUfuCfuaaaasusu	3532	AAUUUUAGAACACCU UUUUCACC	3712
AD-1193409.1	ususuuagAfaCfAfCfcuuuuucacuL96	3353	asdGsugdAadAaaggugUfuCfuaaaasusu	3533	AAUUUUAGAACACCU UUUUCACC	3713
AD-1193410.1	ususuuagAfaCfAfCfcuuuuucacuL96	3354	asdGsugdAadAaaggdTgUfuCfuaaaasusu	3534	AAUUUUAGAACACCU UUUUCACC	3714
AD-1193411.1	ususuuagAfaCfAfCfcuuuuucacuL96	3355	asGfsugdAadAaaggugUfuCfuaaaascsc	3535	AAUUUUAGAACACCU UUUUCACC	3715
AD-1193412.1	ususuuagAfaCfAfCfcuuuuucacuL96	3356	asdGsugdAadAaaggugUfuCfuaaaascsc	3536	AAUUUUAGAACACCU	371

					UUUUCACC	6
AD-1193413.1	ususuuagAfaCfAfCfcuuuuucacuL96	3357	asdGsugdAadAaaggdTgUfuCfuaaaascsc	3537	AAUUUUAGAACACCU UUUUCACC	3717
AD-1193414.1	ususuuagaaCfaCfcuuuuucacuL96	3358	asGfsugaAfaAfAfggugUfuCfuaaaasusu	3538	AAUUUUAGAACACCU UUUUCACC	3718
AD-1193415.1	ususuuagaaCfaCfcuuuuucacuL96	3359	asGfsugdAadAaaggugUfuCfuaaaasusu	3539	AAUUUUAGAACACCU UUUUCACC	3719
AD-1193416.1	ususuuagaaCfaCfcuuuuucacuL96	3360	asdGsugdAadAaaggugUfuCfuaaaasusu	3540	AAUUUUAGAACACCU UUUUCACC	3720
AD-1193417.1	ususuuagaaCfaCfcuuuuucacuL96	3361	asdGsugdAadAaaggdTgUfuCfuaaaasusu	3541	AAUUUUAGAACACCU UUUUCACC	3721
AD-1193418.1	ususuuagaaCfaCfcuuuuucacuL96	3362	asGfsugaAfaAfAfggugUfuCfuaaaasusu	3542	AAUUUUAGAACACCU UUUUCACC	3722
AD-1193419.1	ususuuagaaCfaCfcuuuuucacuL96	3363	asGfsugdAadAaaggugUfuCfuaaaasusu	3543	AAUUUUAGAACACCU UUUUCACC	3723
AD-1193420.1	ususuuagaaCfaCfcuuuuucacuL96	3364	asdGsugdAadAaaggugUfuCfuaaaasusu	3544	AAUUUUAGAACACCU UUUUCACC	3724
AD-1193421.1	ususuuagaaCfaCfcuuuuucacuL96	3365	asdGsugdAadAaaggdTgUfuCfuaaaasusu	3545	AAUUUUAGAACACCU UUUUCACC	3725
AD-1193422.1	gsusggaaUfCfUfgccauugcgaL96	3366	usCfsgcdAadTggcagaUfuCfcacsasg	3546	CUGUGGAAUCUGCCA UUGCGA	3726
AD-1193423.1	gsusggaaUfCfUfgccauugcgaL96	3367	usCfsgcdAadTggcagaUfuCfcacsasg	3547	CUGUGGAAUCUGCCA UUGCGA	3727
AD-1193424.1	usgsaaUfUfGfccaauugcgauL96	3368	asUfscgdCadAuggcagAfuUfccascsa	3548	UGUGGAAUCUGCCAU UGCGAU	3728
AD-1193425.1	usgsaaUfUfGfccaauugcgauL96	3369	asUfscgdCadAuggcagAfuUfccascsa	3549	UGUGGAAUCUGCCAU UGCGAU	3729
AD-1193426.1	gsgsaauUfGfCfcauugcgauL96	3370	asAfsucdGcdAuggcaGfaUfuccasasc	3550	GUGGAAUCUGCCAUU GCGAUU	3730

AD-1193427.1	gsgsaucUfgCfauugcgauuL96	337 1	asAfsucdGcdAauggdCadGaUfuccsgsc	355 1	GUGGAAUCUGCCAUU GCGAUU	373 1
AD-1193428.1	gsasaucGfCfCfauugcgauuuL96	337 2	asAfsaudCgdCaauggcAfgAfuucsesa	355 2	UGGAAUCUGCCAUUG CGAUUG	373 2
AD-1193429.1	gsasaucugCfCfauugcgauuuL96	337 3	asAfsaudCgdCaauggcAfgAfuucscsg	355 3	UGGAAUCUGCCAUUG CGAUUG	373 3
AD-1193430.1	asasucugCfCfAfuugcgauuguL96	337 4	asCfsaadTcdGcaauggCfaGfauuscsc	355 4	GGAAUCUGCCAUUGC GAUUGU	373 4
AD-1193431.1	asasucugCfCfAfuugcgauuguL96	337 5	asCfsaadTcdGcaauggCfagauuscsc	355 5	GGAAUCUGCCAUUGC GAUUGU	373 5
AD-1193432.1	asuscugcCfAfUfugcgauuguuL96	337 6	asAfscaudAudCgcaaugGfcAfgaususc	355 6	GAAUCUGCCAUUGCG AUUGUC	373 6
AD-1193433.1	asuscugcCfAfUfugcgauuguuL96	337 7	asAfscaudAudCgcaadTgdGcAfgaususc	355 7	GAAUCUGCCAUUGCG AUUGUC	373 7
AD-1193434.1	uscsugccAfUfUfgcgauugucuL96	337 8	asGfsacdAadTcgcaauGfgCfagasusu	355 8	AAUCUGCCAUUGCGA UUGUCC	373 8
AD-1193435.1	uscsugccAfUfUfgcgauugucuL96	337 9	asdGsacdAadTcgcadAudGgCfagasusu	355 9	AAUCUGCCAUUGCGA UUGUCC	373 9
AD-1193436.1	csusgccaUfUfGfcgauuguccaL96	338 0	usGfsgadCadAucgcaaUfgGfcagsasu	356 0	AUCUGCCAUUGCGAU UGUCCA	374 0
AD-1193437.1	csusgccaUfudGCfgauuguccaL96	338 1	usdGsgadCadAucgcaaUfgdGcagsasu	356 1	AUCUGCCAUUGCGAU UGUCCA	374 1
AD-1193438.1	usgsccauUfGfCfgauuguccauL96	338 2	asUfsggdAcdAaucgcaAfuGfgcasgsa	356 2	UCUGCCAUUGCGAUU GUCCAG	374 2
AD-1193439.1	usgsccauUfgCfauuguccauL96	338 3	asUfsggdAcdAaucgdCaAfudGgcasgsg	356 3	UCUGCCAUUGCGAUU GUCCAG	374 3
AD-1193440.1	gscscauudGcdGauuguccagaL96	338 4	usCfsugdGa(Cgn)aucgcAfaUfggcsngsg	356 4	CUGCCAUUGCGAUUG UCCAGA	374 4
AD-805631.3	cscscauugCfGfUfUfguccagauL96	338 5	asUfscugGfacaaucgCfaAfugg	356 5	CCAUUGCGAUUGUCC	374

					AGAG	5
AD-1193441.1	cscsauugCfGfAfUfUfguccagauL96	338 6	asUfscudGg(Agn)caaucgCfaAfusgsg	356 6	CCAUUGCGAUUGUCC AGAG	374 6
AD-1193442.1	cscsauugCfGfAfUfUfguccagauL96	338 7	asUfscudGg(Agn)caaucgCfaAfuggscsa	356 7	UGCCAUUGCGAUUGU CCAGAG	374 7
AD-1193443.1	cscsauugCfGfAfUfUfguccagauL96	338 8	asUfscudGg(Agn)caudCgCfaAfuggscsg	356 8	UGCCAUUGCGAUUGU CCAGAG	374 8
AD-1193444.1	csasuugcgAfUfUfguccagagaL96	338 9	usCfsucdTg(G2p)acaauCdGcAfaugsgsc	356 9	GCCAUUGCGAUUGUC CAGAGA	374 9
AD-1193445.1	asusugcgAfUfUfguccagagauL96	339 0	asUfscudCu(G2p)gacaauCfGcfaausgsg	357 0	CCAUUGCGAUUGUCC AGAGAC	375 0
AD-1193446.1	csasuugcgaUfudGUfccagagacuL96	339 1	asdGsucdTc(Tgn)ggacaaUfcdGcaaugsgsc	357 1	GCCAUUGCGAUUGUC CAGAGACU	375 1
AD-1193447.1	usgscgauUfgUfccagagacuuL96	339 2	asAfsugdCu(Cgn)uggadCaAfuCfGcasgsu	357 2	AUUGCGAUUGUCCAG AGACUG	375 2
AD-1193448.1	gscsgauUGfUfCfagagacuguL96	339 3	asCfsagdTcdTcuggacAfaUfcgcsasa	357 3	UUGCGAUUGUCCAGA GACUGG	375 3
AD-1193449.1	ususgcgauugUfCfCfagagacuguL96	339 4	asCfsagdTcdTcuggacAfaUfcgcaasusg	357 4	CAUUGCGAUUGUCCA GAGACUGG	375 4
AD-1193450.1	csgsauugUfCfCfagagacugguL96	339 5	asCfscadGudCucuggaCfaAfucgscsa	357 5	UGCGAUUGUCCAGAG ACUGGU	375 5
AD-1193451.1	csgsauugUfCfCfagagacugguL96	339 6	asCfscadGudCucuggaCfaAfucgscsg	357 6	UGCGAUUGUCCAGAG ACUGGU	375 6
AD-1193452.1	gsasuuguCfCfAfgagacugguuL96	339 7	asAfsccdAg(Tgn)cucuggAfcAfaucsgsc	357 7	GCGAUUGUCCAGAGA CUGGUG	375 7
AD-1193452.2	gsasuuguCfCfAfgagacugguuL96	339 8	asAfsccdAg(Tgn)cucuggAfcAfaucsgsc	357 8	GCGAUUGUCCAGAGA CUGGUG	375 8
AD-1193453.1	asusugucCfAfGfagacuggugaL96	339 9	usCfsacdCadGucucugGfaCfaauscsg	357 9	CGAUUGUCCAGAGAC UGGUGA	375 9

AD-1193454.1	asusugucCfadGagacuggugaL96	3400	usCfsacdCadGucucdTgdGaCfaauscsg	3580	CGAUUGUCCAGAGAC UGGUGA	3760
AD-1193455.1	ususguccAfGfAfgacuggugauL96	3401	asUfscadCc(Agn)gucucuGfgAfcaasusc	3581	GAUUGUCCAGAGACU GGUGAC	3761
AD-1193456.1	ususguccAfgAfgacuggugauL96	3402	asUfscadCc(Agn)gucudCudGgAfcaasusc	3582	GAUUGUCCAGAGACU GGUGAC	3762
AD-1193457.1	usgsuccadGadGacuggugacaL96	3403	usdGsudAc(Cgn)agucdTcUfgdGacasgsu	3583	AUUGUCCAGAGACUG GUGACA	3763
AD-1193458.1	usgsguuuuUfGfAfaaagcuaggaL96	3404	usCfscudAg(Cgn)uuuUcaUfaAfaaccasasc	3584	GUUGGUUUUAUGAAA AGCUAGGA	3764
AD-1193459.1	usgsguuuuUfgAfaaagcuaggaL96	3405	usCfscudAg(Cgn)uuuudCaUfaAfaaccasgs c	3585	GUUGGUUUUAUGAAA AGCUAGGA	3765
AD-1193460.1	gsgsuuuuauGfAfaaagcuaggaaL96	3406	usUfscadTa(G2p)cuuuUcaUfaAfaaaccsgsg	3586	UUGGUUUUAUGAAA GCUAGGAA	3766
AD-1193461.1	gsusuuuauGfAfaaagcuaggaaL96	3407	asUfsudCudAgcuuuUcaUfaAfaaaccsca	3587	UGGUUUUAUGAAA AGCUAGGAA	3767
AD-1193462.1	gsusuuuauGfAfaaagcuaggaaL96	3408	asUfsudCudAgcuuuUcaUfaAfaaaccsca	3588	UGGUUUUAUGAAA AGCUAGGAA	3768
AD-1193463.1	ususuuauGfAfaaagcuaggaaL96	3409	asCfsudCcdTagcuuuUcaUfaAfaaaccsca	3589	GGUUUUUAUGAAA AGCUAGGAA	3769
AD-1193464.1	ususuaugaaAfaaagcuaggaaL96	3410	usdGscudTc(Cgn)uagcuUfuCfaaaaasgsc	3590	GUUUUAUGAAA AGCUAGGAA	3770
AD-1193465.1	ususuaugaaAfaaagcuaggaaL96	3411	usUfsgcdTu(Cgn)cuagdCuUfuUfcauuaasgs g	3591	UUUUUAUGAAA AGCUAGGAA	3771
AD-1193466.1	usasugaaaagCfUfaggaagcaauL96	3412	asUfsugdCu(Tgn)ccuagCfUfcauuaasgs g	3592	UUUAUGAAA AGCUAGGAA	3772
AD-1193467.1	asusgaaaagCfUfaggaagcaauL96	3413	asdGsuudGc(Tgn)uccuagCfUfcauuaasgs g	3593	UUAUGAAA AGCUAGGAA	3773
AD-1193468.1	usgsaaaagcdTadGgaagcaaccuL96	3414	asdGsgudTg(Cgn)uuccdTadGcUfuuucasus g	3594	UAUGAAA AGCUAGGAA	3774

					AGCAACCU	4
AD-1193469.1	gsasaaagcudAgdGaagcaaccuuL96	341 5	asAfsggdTu(G2p)cuucdCuAfgCfuuuucsgsu	359 5	AUGAAAAGCUAGGAA GCAACCUU	377 5
AD-519773.3	asasaagcUfaGfGfAfagcaaccuuuL96	341 6	asAfsaggUfuGfCfuuccUfaGfcuuuuscsa	359 6	UGAAAAGCUAGGAAG CAACCUUU	377 6
AD-1193470.1	asasaagcuaGfGfAfagcaaccuuuL96	341 7	asAfsagdGudTgcuuccUfaGfcuuuuscsa	359 7	UGAAAAGCUAGGAAG CAACCUUU	377 7
AD-1193471.1	asasaagcuadGgdAagcaaccuuuL96	341 8	asAfsagdGudTgcuudCcUfadGcuuuuscsg	359 8	UGAAAAGCUAGGAAG CAACCUUU	377 8
AD-1193472.1	asasagcuaggAfAfgcaaccuuuL96	341 9	asAfsaadGg(Tgn)ugcuucCfuAfgcuuususc	359 9	GAAAAGCUAGGAAGC AACCUUUC	377 9
AD-1193473.1	asasgcuaggAfadGCfaaccuuucL96	342 0	asdGsaadAg(G2p)uugcuuCfcUfagcuususu	360 0	AAAAGCUAGGAAGCA ACCUUUCG	378 0
AD-1193474.1	asgscuaggaAfGfCfaaccuuucL96	342 1	asCfsgadAadGguugcuUfcCfuagcususu	360 1	AAAGCUAGGAAGCAA CCUUUCGC	378 1
AD-1193475.1	csusaggaAfgCfaaccuuucL96	342 2	asCfsgadAadGguugdCuUfcCfuagscsu	360 2	AGCUAGGAAGCAACC UUUCGC	378 2
AD-1193476.1	gscsuaggaaGfCfAfaccuuucL96	342 3	asGfscgdAadAgguugcUfuCfcuagscsu	360 3	AAGCUAGGAAGCAAC CUUUCGCC	378 3
AD-1193477.1	usasggaagCfAfaccuuucL96	342 4	asdGscgdAadAgguugcUfuCfcuasgsc	360 4	GCUAGGAAGCAACCU UUCGCC	378 4
AD-1193478.1	csusaggaagCfAfaccuuucL96	342 5	asGfsgcdGadAagguugCfuUfccuagscsu	360 5	AGCUAGGAAGCAACC UUUCGCCU	378 5
AD-1193479.1	asgsgaagCfAfaccuuucL96	342 6	asdGsgcdGadAagguugCfuUfccusgsg	360 6	CUAGGAAGCAACCUU UCGCCU	378 6
AD-1193480.1	usasggaagCfAfaccuuucL96	342 7	asAfsggdCgdAagguuGfcUfuccuasgsc	360 7	GCUAGGAAGCAACCU UUCGCCUG	378 7
AD-1193481.1	gsgsaagCfAfaccuuucL96	342 8	asAfsggdCgdAaggdTudGcUfuccsusg	360 8	UAGGAAGCAACCUUU CGCCUG	378 8

AD-1193482.1	asgsgaagcaAfCfCfuuucgccuguL96	3429	asCfsagdGcdGaaagguUfgCfuuccusag	3609	CUAGGAAGCAACCUUUCGCCUGU	3789
AD-1193483.1	gsasagcaAfCfCfuuucgccuguL96	3430	asCfsagdGcdGaaagguUfgCfuucsesu	3610	AGGAAGCAACCUUUCGCCUGU	3790
AD-1193484.1	asasgcaaCfCfUfuucgccuguuL96	3431	asAfsadGg(Cgn)gaaaggUfudGcuuscsc	3611	GGAAGCAACCUUUCGCCUGUG	3791
AD-1193485.1	asgscaacCfUfUfucgccuguguL96	3432	asCfsacdAg(G2p)cgaadAgdGuUfgcususc	3612	GAAGCAACCUUUCGCCUGUGC	3792
AD-1193486.1	gscsaaccUfUfUfucgccugugcaL96	3433	usGfscadCa(G2p)gcgadAadGgUfugcsusu	3613	AAGCAACCUUUCGCCUGUGCA	3793

Таблица 51. PNPLA3 Скрининг однократной дозы в клетках Hep3B Cells (% остаточной PNPLA3 мРНК)

Дуплекс	50нМ		10нМ		1нМ		0.1нМ	
	Среднее	SD	Среднее	SD	Среднее	SD	Среднее	SD
AD-67554.9	32.4	8.8	40.9	10.3	68.4	32.5	100.6	32.3
AD-1193317.1	36.2	5.0	43.8	7.4	47.6	10.5	106.5	28.4
AD-1193318.1	30.9	8.1	42.8	7.0	43.8	5.3	103.5	17.8
AD-1193319.1	22.6	12.2	33.3	7.1	48.8	9.9	63.9	7.5
AD-1193320.1	32.6	11.2	40.8	9.5	50.9	4.1	56.7	26.4
AD-1193321.1	28.1	3.9	27.9	2.0	44.1	8.2	65.1	9.2
AD-1193322.1	22.1	2.3	24.5	2.4	40.9	6.9	36.7	9.3
AD-1193323.1	25.5	5.4	27.2	10.4	39.8	14.1	36.6	15.6
AD-1193324.1	33.7	8.3	44.4	10.0	56.9	10.8	78.0	15.6
AD-1193325.1	75.3	17.9	63.9	3.9	85.6	30.8	101.9	34.7
AD-1193326.1	57.5	13.0	52.4	5.2	61.3	8.9	93.0	16.9
AD-1193327.1	48.8	6.3	45.3	9.9	48.8	10.3	69.8	14.0
AD-1193328.1	58.3	6.7	56.4	5.3	66.9	17.3	68.9	36.3
AD-1193329.1	46.8	7.4	42.2	8.2	55.3	6.3	82.5	8.0
AD-1193330.1	31.2	2.7	34.5	4.1	37.9	3.0	51.4	21.9
AD-1193331.1	54.5	12.4	41.1	6.3	54.9	13.4	58.0	18.2
AD-1193332.1	54.5	23.2	34.6	4.9	58.1	16.4	78.2	28.4
AD-1193333.1	33.7	1.5	42.2	2.2	50.5	3.7	83.9	15.4
AD-1193334.1	71.0	13.1	60.7	6.8	71.4	12.4	82.8	14.3
AD-1193335.1	61.4	13.8	56.9	4.5	60.3	6.3	78.7	21.2
AD-1193336.1	53.8	3.0	58.5	13.9	64.4	5.7	78.6	28.1
AD-519346.3	24.2	4.9	36.1	11.5	36.6	6.2	82.0	24.6
AD-1193337.1	18.2	3.6	22.6	3.8	43.5	19.6	39.8	9.5
AD-1193338.1	28.6	3.8	36.7	7.0	42.4	2.0	86.3	20.2
AD-1193339.1	25.9	3.6	31.4	3.6	45.5	9.0	78.7	15.8
AD-1193340.1	33.8	2.7	35.2	4.7	42.4	11.5	70.2	13.0
AD-1193341.1	28.6	5.5	34.0	2.4	57.0	10.4	63.2	19.3
AD-1193342.1	25.7	4.4	31.1	6.8	39.0	4.1	66.3	11.2
AD-1193343.1	24.6	5.9	32.5	2.5	37.8	4.9	81.0	16.1
AD-1193344.1	23.0	3.3	34.6	4.2	33.2	7.9	46.7	12.8
AD-1193345.1	23.4	4.2	35.3	11.8	40.6	9.6	79.2	10.7
AD-1193346.1	18.7	2.9	30.6	3.4	47.9	4.7	90.3	24.4
AD-1193347.1	28.5	6.6	43.9	3.9	57.9	9.7	73.1	21.1
AD-1193348.1	38.2	2.4	38.9	2.8	52.3	9.7	64.7	15.0
AD-1193349.1	26.4	3.9	40.9	7.1	43.5	4.6	75.6	4.4
AD-519347.4	24.5	2.7	33.1	9.0	48.9	15.5	79.8	27.0
AD-1193350.1	20.8	0.9	31.2	7.1	42.3	11.3	61.4	8.3
AD-1193351.1	19.2	3.4	31.3	3.1	40.2	5.4	58.2	24.1
AD-1193352.1	21.4	3.8	38.4	11.3	37.2	5.0	83.9	5.8
AD-1193353.1	26.3	4.3	36.5	5.3	55.2	10.8	96.6	16.1
AD-1193354.1	27.3	6.9	35.9	1.4	52.9	3.6	75.3	4.3
AD-1193355.1	37.3	4.4	43.7	9.4	57.4	7.0	86.3	12.1
AD-1193356.1	38.8	5.7	48.4	5.0	60.5	11.2	87.4	4.9
AD-1193357.1	37.2	4.5	49.0	11.9	59.1	17.2	84.1	8.9
AD-1193358.1	34.9	9.9	45.9	9.9	56.5	9.7	57.3	16.4
AD-519350.4	32.6	3.5	36.3	13.8	47.7	9.4	96.7	23.3



AD-1193359.1	33.5	2.0	33.5	1.6	54.4	6.9	85.0	18.8
AD-1193360.1	28.7	5.5	39.8	3.3	50.9	9.7	85.3	14.3
AD-1193361.1	33.0	4.4	42.5	4.3	49.0	4.3	59.5	6.2
AD-1193362.1	33.3	6.6	46.4	10.6	62.4	12.3	61.4	7.8
AD-1193363.1	25.4	2.7	35.3	4.8	46.1	6.1	59.5	21.1
AD-1193364.1	28.7	3.3	29.0	3.4	53.3	14.5	67.2	13.3
AD-1193365.1	20.7	3.8	29.3	9.2	40.6	4.3	56.7	13.2
AD-1193366.1	30.5	1.7	39.8	7.1	41.7	6.3	82.0	30.9
AD-1193367.1	29.3	9.0	37.5	10.3	41.9	7.7	77.8	26.0
AD-1193368.1	36.2	7.7	42.7	6.1	52.5	9.8	72.3	16.8
AD-1193369.1	51.7	23.9	47.4	4.8	45.9	3.4	70.7	15.6
AD-1193370.1	29.9	4.6	43.4	2.9	52.7	14.2	76.6	20.3
AD-1193371.1	34.5	5.1	31.4	7.4	38.9	6.5	65.9	11.0
AD-1193372.1	30.8	3.7	39.4	8.7	48.0	6.4	77.3	5.3
AD-519757.4	32.3	1.1	58.0	8.1	61.1	8.0	83.2	15.0
AD-1193373.1	40.8	6.6	59.6	12.1	65.9	9.1	99.6	27.0
AD-1193374.1	55.5	4.7	61.5	8.3	78.6	11.7	97.8	22.6
AD-1193375.1	65.6	11.1	74.6	14.7	94.6	15.4	89.3	27.0
AD-1193376.1	65.7	3.1	78.8	11.1	94.1	19.5	85.4	16.2
AD-1193377.1	53.4	5.9	64.0	17.9	72.2	16.5	94.9	10.3
AD-1193378.1	53.3	6.9	72.6	8.3	72.1	10.2	70.6	25.9
AD-1193379.1	36.9	7.7	49.7	11.0	59.0	12.5	85.8	10.1
AD-1193380.1	40.9	9.3	61.5	19.2	71.9	12.0	101.4	13.9
AD-1193381.1	55.7	15.8	69.3	6.2	90.6	38.1	106.0	12.6
AD-1193382.1	78.9	14.3	96.4	13.8	94.3	20.3	130.7	11.3
AD-1193383.1	76.4	23.2	87.0	24.5	90.4	9.8	116.3	14.5
AD-1193384.1	107.4	7.9	97.1	13.0	104.3	17.4	140.3	15.9
AD-1193385.1	46.1	10.1	72.3	21.2	54.1	2.4	84.5	20.3
AD-1193386.1	53.4	9.5	64.9	10.2	79.4	7.1	102.8	12.3
AD-1193387.1	58.3	24.2	54.3	3.6	77.1	20.3	93.3	15.4
AD-1193388.1	42.9	4.4	63.4	8.0	89.4	7.3	109.9	33.5
AD-1193389.1	70.9	13.7	88.8	13.4	97.8	15.5	119.3	30.2
AD-1193390.1	62.6	14.5	70.4	7.1	100.9	35.3	120.1	21.6
AD-1193391.1	73.6	8.9	85.4	23.5	115.5	35.0	120.4	18.2
AD-520018.9	25.3	4.0	41.2	5.9	60.8	9.8	110.1	16.8
AD-1193392.1	27.9	6.9	42.9	11.9	51.1	17.6	85.4	10.3
AD-1193393.1	34.4	10.9	39.7	14.6	47.3	11.7	78.6	12.3
AD-1193394.1	33.8	6.8	52.5	16.4	56.8	4.6	62.7	23.2
AD-1193395.1	27.7	9.0	42.8	10.1	54.3	7.6	69.2	16.8
AD-1193396.1	36.3	11.7	51.3	3.4	58.4	18.1	90.3	23.6
AD-1193397.1	44.5	13.8	62.3	12.7	50.0	18.9	74.2	16.6
AD-1193398.1	27.3	7.4	47.5	5.1	52.8	4.0	87.0	19.6
AD-1193399.1	35.8	6.6	45.3	10.1	58.4	15.9	89.7	11.7
AD-1193400.1	27.1	5.8	47.1	14.5	59.1	13.8	72.1	16.1
AD-1193401.1	26.7	17.3	46.4	2.6	64.4	8.5	85.5	22.4
AD-1193402.1	25.9	14.1	38.7	12.2	48.1	3.9	64.4	22.7
AD-1193403.1	30.4	8.6	44.7	7.2	54.5	4.0	81.1	15.1
AD-1193404.1	27.6	12.1	46.4	4.7	36.0	13.6	76.3	18.6
AD-1193405.1	26.8	5.4	38.3	3.6	51.1	3.1	76.2	10.8
AD-1193406.1	29.0	9.9	35.3	6.9	54.2	3.3	96.3	21.3

AD-1193407.1	21.5	7.1	32.0	7.3	47.7	5.0	61.4	11.1
AD-520053.5	11.3	6.6	23.9	5.3	30.9	8.0	49.2	14.7
AD-1193408.1	24.3	7.6	40.1	1.4	60.8	12.1	83.1	22.4
AD-1193409.1	21.1	6.9	26.7	4.8	51.4	15.8	76.5	9.6
AD-1193410.1	20.4	3.3	24.1	4.4	33.5	3.9	91.0	10.4
AD-1193411.1	23.3	12.5	28.3	7.0	48.4	6.2	83.1	30.9
AD-1193412.1	21.0	7.6	28.0	2.5	43.4	8.3	71.1	14.0
AD-1193413.1	28.6	5.1	23.2	1.6	45.1	8.0	65.8	4.7
AD-1193414.1	23.7	8.6	28.7	11.4	40.0	6.1	65.9	23.7
AD-1193415.1	11.1	3.3	30.7	5.2	38.1	9.0	58.4	11.2
AD-1193416.1	32.8	6.3	38.5	5.4	47.7	12.0	64.9	9.2
AD-1193417.1	29.1	3.7	43.6	12.4	58.3	4.0	87.4	15.6
AD-1193418.1	46.2	11.5	31.7	5.5	56.1	10.5	80.3	11.9
AD-1193419.1	29.7	2.2	42.7	5.6	59.5	11.8	79.1	9.3
AD-1193420.1	29.3	3.2	29.0	7.4	38.1	4.2	70.6	15.2
AD-1193421.1	18.7	6.7	25.6	9.7	29.1	8.7	47.1	7.6
AD-1193422.1	25.6	5.7	48.1	8.4	56.9	22.0	58.7	11.9
AD-1193423.1	55.6	8.9	68.1	6.7	78.2	3.1	77.5	12.5
AD-1193424.1	39.2	5.0	50.4	10.8	66.3	15.0	100.3	28.7
AD-1193425.1	58.7	9.2	54.7	5.1	69.9	12.0	88.5	17.5
AD-1193426.1	38.0	3.3	41.3	5.0	56.7	8.6	79.3	2.5
AD-1193427.1	41.7	7.8	37.6	6.0	60.0	5.3	72.0	4.0
AD-1193428.1	38.0	4.3	32.2	13.9	43.1	19.7	56.7	22.0
AD-1193429.1	40.2	10.5	43.4	13.4	50.0	11.4	52.3	13.4
AD-1193430.1	47.3	6.8	54.1	7.1	74.4	13.3	92.8	7.3
AD-1193431.1	45.8	7.9	53.6	7.7	71.8	7.3	116.6	14.1
AD-1193432.1	57.3	3.6	52.2	13.6	83.6	3.8	99.5	12.6
AD-1193433.1	35.2	13.7	47.6	14.8	73.4	22.0	71.7	7.4
AD-1193434.1	75.2	8.4	95.7	19.4	107.3	18.0	105.9	27.1
AD-1193435.1	75.3	7.5	63.1	10.9	79.2	18.9	70.4	20.0
AD-1193436.1	37.1	7.2	42.6	12.0	65.7	22.3	79.1	20.0
AD-1193437.1	26.3	7.3	76.6	41.5	50.4	16.0	61.8	14.3
AD-1193438.1	45.5	8.4	51.1	3.0	71.2	3.6	92.0	7.5
AD-1193439.1	60.8	6.5	66.7	4.4	91.7	8.3	125.9	18.1
AD-1193440.1	128.1	12.3	86.7	11.2	99.9	8.2	83.7	19.6
AD-805631.3	76.1	9.0	73.7	7.9	109.0	18.9	100.3	15.6
AD-1193441.1	71.4	12.6	91.6	13.0	116.1	20.7	103.1	26.0
AD-1193442.1	51.4	6.5	54.7	5.6	67.8	15.5	106.9	31.6
AD-1193443.1	31.6	8.6	41.7	11.1	44.0	12.5	79.0	29.5
AD-1193444.1	83.4	2.4	73.6	17.1	92.4	11.7	84.3	25.3
AD-1193445.1	86.5	4.5	85.5	15.1	94.5	27.8	103.3	9.7
AD-1193446.1	79.6	15.2	72.5	9.0	91.1	18.9	87.7	10.1
AD-1193447.1	117.4	18.9	99.1	15.4	115.7	27.8	91.8	20.5
AD-1193448.1	47.7	7.7	52.1	7.4	74.2	16.2	93.2	24.0
AD-1193449.1	43.0	12.3	52.4	10.0	64.4	1.9	84.5	10.8
AD-1193450.1	43.2	14.8	68.7	11.6	71.6	16.2	68.3	12.5
AD-1193451.1	52.4	13.9	72.2	6.5	77.8	15.9	63.2	10.4
AD-1193452.1	70.9	12.6	81.1	5.6	97.2	19.5	97.2	11.8
AD-1193452.2	71.9	14.7	89.6	13.0	112.4	14.3	109.8	22.8
AD-1193453.1	88.9	15.4	83.1	11.0	97.1	27.3	98.8	12.3

AD-1193454.1	119.8	17.1	96.2	18.7	120.9	12.9	112.1	16.2
AD-1193455.1	106.1	14.5	93.4	23.8	116.1	10.2	103.7	24.9
AD-1193456.1	85.1	22.7	86.9	10.6	97.3	25.7	102.0	11.2
AD-1193457.1	53.2	23.9	61.2	22.6	82.8	12.8	90.0	14.0
AD-1193458.1	46.2	33.5	76.4	16.5	82.2	15.3	76.4	11.7
AD-1193459.1	68.2	12.4	79.6	21.7	95.4	11.0	104.3	8.7
AD-1193460.1	58.1	14.5	69.8	10.3	95.6	12.7	85.6	20.4
AD-1193461.1	68.4	9.2	61.0	9.3	75.1	13.2	77.2	5.0
AD-1193462.1	46.4	9.0	56.5	10.5	74.9	13.1	78.3	14.0
AD-1193463.1	62.5	14.0	66.1	7.6	92.5	11.0	98.7	23.3
AD-1193464.1	52.2	13.4	49.0	10.1	50.8	15.8	54.5	18.4
AD-1193465.1	41.9	15.2	64.6	7.4	48.6	16.7	64.3	11.9
AD-1193466.1	53.0	7.2	55.1	9.1	75.8	12.0	77.0	24.4
AD-1193467.1	57.0	14.0	54.3	7.4	73.7	6.1	110.5	30.2
AD-1193468.1	86.8	13.8	94.0	14.8	98.8	9.8	108.8	19.6
AD-1193469.1	90.2	12.4	91.8	6.9	100.2	15.6	113.3	27.2
AD-519773.3	56.2	2.7	57.4	13.3	54.7	9.0	107.0	5.6
AD-1193470.1	55.4	8.7	39.1	7.8	42.3	9.2	68.4	10.3
AD-1193471.1	46.6	21.6	48.9	5.9	36.5	4.8	60.4	19.0
AD-1193472.1	70.7	22.1	76.2	10.3	101.6	15.8	63.0	1.2
AD-1193473.1	62.6	16.1	60.0	16.7	82.6	6.0	107.0	23.5
AD-1193474.1	55.0	15.6	57.0	12.2	70.5	15.9	81.5	14.3
AD-1193475.1	71.9	4.8	59.2	2.5	74.5	13.3	116.9	22.5
AD-1193476.1	67.6	12.1	65.6	6.0	76.1	6.5	132.8	18.8
AD-1193477.1	67.6	3.5	65.7	13.6	62.6	7.6	108.6	28.3
AD-1193478.1	65.9	18.6	50.6	5.2	49.8	8.2	91.1	16.4
AD-1193479.1	34.1	12.3	45.2	4.2	39.2	11.6	106.3	37.4
AD-1193480.1	30.1	8.0	52.1	11.6	51.3	5.7	83.1	14.8
AD-1193481.1	33.2	4.9	41.1	7.0	67.2	15.6	96.1	21.9
AD-1193482.1	38.8	5.8	52.8	13.4	57.2	6.8	99.4	26.1
AD-1193483.1	42.5	11.4	60.0	21.7	77.5	14.5	112.1	35.1
AD-1193484.1	47.2	6.9	48.9	7.7	80.6	6.7	79.2	16.9
AD-1193485.1	65.2	5.0	78.8	10.8	82.5	10.8	94.5	16.5
AD-1193486.1	94.3	12.1	93.6	10.7	71.4	30.8	106.2	9.5

**Таблица 52. PNPLA3 Скрининг однократной дозы (свободное поглощение) первичными гепатоцитами яванского макака (PCH) (% остаточной PNPLA3 мРНК)**

Дуплекс	500 нМ		100 нМ		10 нМ		1 нМ	
	Среднее	SD	Среднее	SD	Среднее	SD	Среднее	SD
AD-67554.9	54.4	n/a	38.5	21.8	50.1	6.1	108.8	100.6
AD-1193317.1	48.4	16.9	75.0	8.8	67.4	24.1	91.0	31.5
AD-1193318.1	55.5	14.8	58.5	54.9	51.7	19.9	98.1	19.1
AD-1193319.1	39.2	9.0	66.2	7.1	76.1	31.6	87.4	23.7
AD-1193320.1	64.8	7.0	52.4	24.2	79.4	1.2	110.3	38.3
AD-1193321.1	51.1	21.2	52.4	35.8	64.5	20.2	78.8	29.1
AD-1193322.1	52.6	21.1	43.0	25.8	75.4	19.2	119.5	9.9
AD-1193323.1	58.5	33.4	39.1	18.7	63.7	29.6	53.8	9.2
AD-1193324.1	54.6	6.9	47.4	25.4	63.6	11.5	70.1	18.0
AD-1193325.1	81.0	18.7	104.1	19.3	110.8	8.1	97.8	19.1
AD-1193326.1	57.7	5.5	79.2	13.0	85.4	6.9	93.8	14.6

AD-1193327.1	81.2	33.7	81.9	1.5	96.2	21.0	92.6	9.1
AD-1193328.1	72.5	13.7	104.9	8.6	76.8	6.6	86.6	11.1
AD-1193329.1	74.1	6.9	109.9	21.1	91.1	11.3	100.0	21.9
AD-1193330.1	70.4	39.4	109.0	32.8	84.8	9.0	113.5	26.9
AD-1193331.1	85.6	31.9	82.9	34.6	71.1	19.3	129.4	38.7
AD-1193332.1	43.7	2.4	60.0	26.9	58.0	11.5	60.9	21.4
AD-1193333.1	52.7	15.8	77.7	5.7	85.6	7.9	72.4	16.0
AD-1193334.1	76.0	15.1	87.3	3.7	95.1	17.8	88.5	18.0
AD-1193335.1	66.4	11.9	84.4	8.0	81.4	12.6	83.1	9.1
AD-1193336.1	68.2	19.1	91.5	14.9	82.0	12.5	79.6	23.7
AD-519346.3	64.0	25.2	85.5	11.1	91.2	25.5	85.5	14.0
AD-1193337.1	38.0	4.8	72.8	28.5	78.0	18.5	90.7	1.8
AD-1193338.1	47.0	4.8	76.9	35.9	61.0	16.6	60.9	16.7
AD-1193339.1	54.1	20.8	60.2	11.0	86.7	23.9	80.9	16.3
AD-1193340.1	55.2	20.6	65.7	16.6	107.2	55.6	78.7	13.2
AD-1193341.1	45.4	9.6	55.8	3.2	78.0	5.9	78.2	8.1
AD-1193342.1	41.4	10.0	62.7	7.7	76.7	10.8	89.2	5.1
AD-1193343.1	45.6	12.4	71.8	8.6	68.6	8.3	88.4	6.0
AD-1193344.1	55.8	7.6	58.3	18.6	73.8	3.6	66.9	20.4
AD-1193345.1	62.1	3.6	74.5	36.7	78.6	36.5	58.7	19.9
AD-1193346.1	54.5	5.0	55.0	3.8	97.5	5.4	85.3	11.0
AD-1193347.1	66.3	19.3	67.3	5.6	107.0	29.0	95.2	9.4
AD-1193348.1	65.0	15.8	80.9	13.5	99.3	26.6	98.7	22.8
AD-1193349.1	50.3	14.0	70.3	22.0	91.5	11.7	85.3	10.7
AD-519347.4	76.6	24.3	55.9	8.7	91.0	14.8	88.7	10.3
AD-1193350.1	56.8	28.0	55.4	2.2	77.3	10.2	84.2	13.1
AD-1193351.1	47.1	5.1	82.5	11.7	89.6	17.1	93.2	9.6
AD-1193352.1	54.8	4.3	58.3	6.1	67.4	27.9	61.7	0.9
AD-1193353.1	58.3	15.9	59.3	9.9	98.3	8.7	81.2	14.2
AD-1193354.1	56.4	18.6	55.8	12.0	86.1	8.3	81.4	10.0
AD-1193355.1	94.6	28.6	85.5	21.2	93.8	5.1	92.3	16.1
AD-1193356.1	47.3	5.5	67.9	1.3	95.3	7.7	118.7	73.9
AD-1193357.1	77.6	29.8	71.4	4.8	105.7	13.6	100.2	18.9
AD-1193358.1	58.6	4.9	64.3	5.2	80.3	16.9	90.7	10.9
AD-519350.4	60.4	15.2	59.5	23.5	57.5	3.4	60.3	21.1
AD-1193359.1	80.7	10.4	96.2	7.6	112.2	13.5	91.1	16.0
AD-1193360.1	102.6	27.0	93.5	14.4	114.6	11.9	81.5	9.4
AD-1193361.1	82.2	14.8	87.1	n/a	115.4	19.7	165.0	127.4
AD-1193362.1	109.2	38.9	97.3	11.6	109.6	9.1	149.9	76.0
AD-1193363.1	77.0	20.4	91.1	5.8	90.6	8.1	90.0	5.6
AD-1193364.1	68.6	17.3	96.6	10.5	97.0	9.0	100.3	15.4
AD-1193365.1	77.6	29.1	96.0	13.2	100.9	5.3	90.6	9.3
AD-1193366.1	68.9	9.1	87.9	15.9	83.7	20.1	51.9	18.7
AD-1193367.1	75.7	15.2	96.0	16.5	112.8	9.9	74.0	4.5
AD-1193368.1	86.7	14.7	90.9	14.5	115.5	20.4	82.2	8.8
AD-1193369.1	72.4	26.0	101.3	5.4	142.9	32.6	125.0	45.8
AD-1193370.1	94.2	29.8	101.4	7.7	121.2	6.5	95.5	17.0
AD-1193371.1	72.8	21.4	90.5	5.3	113.5	10.1	87.6	8.0
AD-1193372.1	109.7	37.6	102.7	19.0	107.2	20.6	84.2	10.4

AD-519757.4	66.8	35.1	108.2	8.5	97.9	26.8	93.8	9.6
AD-1193373.1	53.5	7.3	75.7	20.4	74.5	29.8	102.6	55.7
AD-1193374.1	94.6	35.4	98.0	6.7	121.0	23.6	84.3	6.0
AD-1193375.1	89.8	20.3	103.1	3.3	122.8	8.5	89.2	24.7
AD-1193376.1	95.7	29.8	126.7	28.8	105.9	17.9	72.3	8.8
AD-1193377.1	61.4	9.9	116.9	20.0	105.4	14.0	78.6	11.8
AD-1193378.1	68.4	21.1	102.5	12.8	109.7	15.9	87.4	5.4
AD-1193379.1	57.7	13.8	99.3	27.4	99.5	32.7	86.4	1.7
AD-1193380.1	77.9	32.2	78.4	19.1	83.8	17.7	65.5	3.2
AD-1193381.1	71.1	9.8	109.6	19.8	122.9	25.7	135.4	52.7
AD-1193382.1	101.0	15.9	126.4	24.8	128.1	20.3	88.1	10.8
AD-1193383.1	91.0	19.6	114.0	13.5	107.7	13.0	87.5	14.8
AD-1193384.1	93.8	7.0	118.1	21.9	106.8	13.5	202.7	185.4
AD-1193385.1	70.8	17.3	92.1	9.2	109.5	6.6	103.7	9.0
AD-1193386.1	65.9	22.5	138.5	36.6	109.7	32.7	135.6	31.6
AD-1193387.1	46.6	3.6	83.9	36.6	64.8	15.3	230.5	271.8
AD-1193388.1	68.2	14.7	99.9	22.9	104.4	22.7	89.4	n/a
AD-1193389.1	72.9	9.2	120.7	23.0	106.3	8.8	n/a	n/a
AD-1193390.1	80.8	10.3	94.7	9.7	111.4	9.8	117.2	n/a
AD-1193391.1	93.0	29.3	117.7	7.0	108.9	14.0	n/a	n/a
AD-520018.9	75.1	35.9	85.7	11.8	86.3	2.5	n/a	n/a
AD-1193392.1	95.1	34.0	117.4	11.4	115.5	6.3	292.6	n/a
AD-1193393.1	57.7	28.7	148.4	13.8	104.6	38.8	121.0	44.6
AD-1193394.1	71.1	42.0	68.9	15.8	70.7	21.2	53.3	11.3
AD-1193395.1	79.1	22.9	91.2	27.2	84.3	9.7	164.8	152.7
AD-1193396.1	60.4	17.7	104.3	15.3	95.5	21.0	159.6	149.5
AD-1193397.1	106.2	42.2	89.2	26.0	90.7	20.4	92.0	n/a
AD-1193398.1	51.6	9.8	86.4	5.0	74.8	15.4	93.7	30.5
AD-1193399.1	94.0	19.4	100.9	27.6	88.2	28.8	114.5	7.3
AD-1193400.1	67.4	23.0	108.8	24.8	81.0	23.7	141.2	31.6
AD-1193401.1	58.2	46.0	104.3	n/a	95.3	33.1	51.2	14.7
AD-1193402.1	85.6	16.7	87.5	7.3	93.8	27.4	84.8	25.2
AD-1193403.1	85.6	5.7	78.6	10.2	93.4	31.2	81.0	10.0
AD-1193404.1	77.2	23.3	86.6	21.8	86.2	29.7	76.6	17.2
AD-1193405.1	64.6	14.4	83.3	4.5	104.0	40.2	95.9	24.6
AD-1193406.1	91.7	18.0	89.9	30.4	112.1	20.8	68.2	27.3
AD-1193407.1	98.2	43.4	109.1	62.9	144.8	1.4	54.1	19.2
AD-520053.5	66.3	18.3	88.0	41.5	103.2	44.9	56.0	15.6
AD-1193408.1	47.2	2.1	41.0	12.2	84.0	21.0	63.0	23.6
AD-1193409.1	64.7	10.7	59.4	8.3	76.3	9.7	95.1	5.2
AD-1193410.1	62.9	10.1	48.1	3.2	72.6	7.7	104.7	20.2
AD-1193411.1	53.0	5.2	48.3	3.5	70.9	14.0	95.5	11.5
AD-1193412.1	48.9	2.2	43.6	4.3	69.7	9.3	91.1	6.6
AD-1193413.1	58.6	4.9	55.0	8.9	84.6	5.4	100.2	11.6
AD-1193414.1	82.3	15.4	76.3	16.6	124.2	13.5	105.5	27.3
AD-1193415.1	80.8	14.3	111.6	10.4	120.4	34.2	84.8	5.2
AD-1193416.1	44.3	17.6	51.8	21.1	63.4	3.7	78.7	19.1
AD-1193417.1	54.6	19.1	51.2	4.5	65.4	6.7	82.0	5.4
AD-1193418.1	64.5	7.1	62.9	3.4	65.9	3.0	93.2	2.6

AD-1193419.1	55.5	3.0	51.8	3.6	67.3	1.4	77.9	13.2
AD-1193420.1	54.5	3.8	51.7	3.7	79.7	11.6	89.0	9.3
AD-1193421.1	63.3	4.7	62.3	4.1	101.2	8.2	80.0	10.4
AD-1193422.1	137.5	11.1	106.8	11.5	122.0	39.4	85.9	13.3
AD-1193423.1	63.3	37.2	79.9	2.0	110.5	47.4	102.9	13.4
AD-1193424.1	66.9	9.9	59.7	5.7	74.1	4.8	101.5	8.0
AD-1193425.1	80.4	8.1	78.9	13.3	73.7	8.3	94.9	4.0
AD-1193426.1	53.1	4.4	55.7	3.4	71.8	14.5	68.5	4.5
AD-1193427.1	71.1	5.7	81.1	14.3	81.3	11.3	79.5	10.2
AD-1193428.1	76.2	4.7	63.5	4.0	113.3	30.1	83.7	10.3
AD-1193429.1	101.4	3.2	116.4	47.0	160.6	n/a	89.7	28.5
AD-1193430.1	45.8	38.4	53.8	15.8	83.4	16.3	113.0	1.1
AD-1193431.1	63.6	4.2	65.2	6.5	72.9	1.8	113.3	9.6
AD-1193432.1	68.0	7.5	71.2	2.0	75.8	7.3	111.8	10.1
AD-1193433.1	71.7	5.2	70.2	8.4	70.6	2.3	106.4	11.2
AD-1193434.1	81.4	11.3	77.2	4.6	79.3	4.0	93.1	7.0
AD-1193435.1	87.4	8.7	87.6	6.8	94.9	22.5	90.5	12.3
AD-1193436.1	71.3	3.1	65.7	7.0	105.7	4.6	91.1	10.6
AD-1193437.1	77.3	5.3	72.6	11.3	141.9	9.7	95.0	15.0
AD-1193438.1	41.1	18.3	33.7	32.0	81.9	21.3	97.1	17.2
AD-1193439.1	65.3	5.1	69.9	1.3	70.4	8.2	127.4	20.2
AD-1193440.1	104.4	13.4	99.9	21.5	84.6	5.0	97.7	20.0
AD-805631.3	79.1	11.9	72.1	5.5	80.3	4.2	113.0	23.4
AD-1193441.1	86.8	4.5	83.1	5.8	97.6	43.6	100.0	4.8
AD-1193442.1	80.2	8.9	72.2	18.5	100.2	13.0	106.3	10.8
AD-1193443.1	78.1	6.5	82.3	13.4	128.2	33.5	95.1	12.7
AD-1193444.1	64.0	25.7	68.3	32.7	65.0	1.0	96.2	16.6
AD-1193445.1	89.9	3.1	82.1	8.0	83.9	6.2	122.6	17.3
AD-1193446.1	91.0	3.6	72.2	26.3	84.8	18.6	106.8	13.6
AD-1193447.1	89.7	13.6	90.9	4.7	89.7	17.9	120.1	8.8
AD-1193448.1	63.6	2.9	68.7	7.1	79.0	4.4	99.2	12.5
AD-1193449.1	74.6	3.9	70.3	6.9	95.2	15.3	96.7	13.9
AD-1193450.1	81.5	5.8	80.2	4.9	169.5	25.9	98.5	16.1
AD-1193451.1	95.7	26.0	82.5	8.3	216.4	n/a	106.5	5.6
AD-1193452.1	66.7	24.1	49.9	40.7	74.7	1.1	81.5	24.5
AD-1193452.2	87.1	6.8	88.1	8.1	90.0	13.8	137.9	18.9
AD-1193453.1	82.9	9.0	82.9	2.9	81.5	10.7	141.1	11.7
AD-1193454.1	87.6	23.1	88.8	3.9	101.0	19.5	111.0	17.2
AD-1193455.1	102.3	32.6	92.3	13.5	87.1	10.5	91.3	7.0
AD-1193456.1	96.7	14.6	87.2	5.4	105.9	12.1	115.5	10.1
AD-1193457.1	85.5	9.2	85.9	8.6	170.3	23.2	113.7	5.8
AD-1193458.1	75.7	17.2	91.9	22.6	142.2	22.9	90.9	2.9
AD-1193459.1	70.5	31.2	69.6	18.7	65.9	19.3	95.5	32.7
AD-1193460.1	83.5	4.8	77.5	9.3	75.2	0.5	121.8	17.7
AD-1193461.1	64.3	7.6	67.3	10.5	70.8	5.6	115.5	16.9
AD-1193462.1	62.9	1.3	61.4	4.1	81.9	8.5	109.8	15.6
AD-1193463.1	74.5	10.8	68.4	3.4	107.4	6.8	97.8	19.2
AD-1193464.1	77.3	5.6	78.5	11.5	147.0	26.5	105.9	13.6
AD-1193465.1	86.4	36.5	83.0	13.2	193.7	n/a	89.4	17.2

AD-1193466.1	51.6	12.2	48.2	10.9	68.8	12.4	91.0	26.1
AD-1193467.1	99.4	18.0	84.9	3.2	74.5	6.4	126.9	4.0
AD-1193468.1	97.3	13.6	97.0	12.8	88.4	8.6	123.7	14.9
AD-1193469.1	89.6	7.6	78.1	17.0	99.4	13.3	101.6	16.1
AD-519773.3	63.3	4.0	60.5	7.6	112.7	24.3	129.6	23.3
AD-1193470.1	70.9	9.0	64.6	4.3	135.9	24.9	106.4	23.0
AD-1193471.1	77.9	23.5	85.3	2.5	161.9	11.1	80.6	8.5
AD-1193472.1	63.9	39.9	64.2	26.0	77.2	15.5	74.3	17.8
AD-1193473.1	86.6	5.0	80.5	3.9	79.6	10.8	115.1	7.9
AD-1193474.1	90.1	2.3	81.1	4.6	79.5	5.5	124.9	14.6
AD-1193475.1	82.5	22.7	84.1	8.0	79.1	8.1	118.2	19.9
AD-1193476.1	86.6	5.2	85.2	8.8	83.2	3.5	122.2	9.6
AD-1193477.1	81.2	1.1	80.2	8.8	87.0	9.1	101.2	8.3
AD-1193478.1	100.9	16.7	85.4	5.6	155.3	20.6	109.3	6.3
AD-1193479.1	119.3	1.8	90.0	41.1	171.3	27.4	75.2	15.7
AD-1193480.1	46.4	25.9	62.2	19.4	57.8	12.2	72.1	18.6
AD-1193481.1	65.0	48.7	72.5	24.4	83.0	6.9	105.4	12.0
AD-1193482.1	76.5	22.8	74.0	16.5	86.0	18.6	108.5	9.9
AD-1193483.1	82.1	21.3	68.0	34.6	79.0	4.3	76.6	17.6
AD-1193484.1	85.8	38.5	63.2	38.2	81.8	11.2	83.2	18.2
AD-1193485.1	75.7	11.8	81.3	10.4	99.7	14.4	71.1	22.4
AD-1193486.1	106.3	27.5	86.8	11.7	172.4	64.3	77.1	28.3

#### Варианты осуществления изобретения

В одном аспекте изобретение относится к двухцепочечной агент рибонуклеиновой кислоты (дсРНК) для ингибирования экспрессии белка 3, содержащего пататин-подобный фосфолипазный домен (PNPLA3), в клетке, причем средство на основе дсРНК содержит смысловую цепь и антисмысловую цепи, образующую двухцепочечную область, где смысловая цепь содержит по меньшей мере 15, например, 15, 16, 17, 18, 19 или 20 смежных нуклеотидов, отличаясь не более чем на 0, 1, 2 или 3 нуклеотида от нуклеотидной последовательности SEQ ID NO:1, а антисмысловая цепь содержит по меньшей мере 15, например, 15, 16, 17, 18, 19 или 20 смежных нуклеотидов, отличаясь не более чем на 1, 2 или 3 нуклеотида от нуклеотидной последовательности SEQ ID NO:2. В одном варианте осуществления средство на основе дсРНК содержит по меньшей мере одну термически дестабилизирующую модификацию нуклеотида, например абазическую модификацию; мисматч (несовпадение) с противоположным нуклеотидом в дуплексе; и дестабилизирующую модификацию сахара, 2'-дезоксимодификацию, ациклический нуклеотид, разблокированную нуклеиновую кислоту (UNA) или глицериновую нуклеиновую кислоту (GNA), то есть антисмысловая цепь содержит по меньшей мере одну термически дестабилизирующую модификацию нуклеотида.

В другом аспекте настоящее изобретение относится к двухцепочечной агент рибонуклеиновой кислоты (дсРНК) для ингибирования экспрессии белка 3, содержащего пататин-подобный фосфолипазный домен (PNPLA3), в клетке, причем указанная дсРНК содержит смысловую цепь и антисмысловую цепь, образующие двухцепочечную область, при этом антисмысловая цепь содержит область комплементарности к мРНК,

кодирующей белок 3, содержащий пататин-подобный фосфолипазный домен (PNPLA3), и при этом область комплементарности содержит по меньшей мере 15, например, 15, 16, 17, 18, 19 или 20 смежных нуклеотидов, отличающиеся не более чем на 0, 1, 2 или 3 нуклеотида от любой из антисмысловых нуклеотидных последовательностей в любой из Таблиц 2-11, 21, 24, 27, 30, 32, 33, 36, 37, 49 или 50.

В одном аспекте настоящее изобретение относится к двухцепочечной агент рибонуклеиновой кислоты (дсРНК) для ингибирования экспрессии белка 3, содержащего пататин-подобный фосфолипазный домен (PNPLA3), в клетке, причем указанная дсРНК содержит смысловую цепь и антисмысловую цепь, образующие двухцепочечную область, где смысловая цепь содержит по меньшей мере 15, например, 15, 16, 17, 18, 19 или 20, смежных нуклеотидов, отличаясь не более чем на 0, 1, 2 или 3 нуклеотида от любой из нуклеотидной последовательности нуклеотидов 677-721; 683-721; 773-817; 1185-1295; 1185-1241; 1202-1295; 1202-1241; 1255-1295; 1738-1792; 1901-1945; 1920-1945; 2108-2208; 2108-2166; 2108-2136, 2121-2166; 2121-2208; 2169-2208; 2176-2208; или 2239-2265 нуклеотидной последовательности SEQ ID NO:1, и антисмысловая цепь содержит по меньшей мере 19 смежных нуклеотидов из соответствующей нуклеотидной последовательности SEQ ID NO:2.

В одном аспекте настоящее изобретение относится к двухцепочечной агент рибонуклеиновой кислоты (дсРНК) для ингибирования экспрессии белка 3, содержащего пататин-подобный фосфолипазный домен (PNPLA3), в клетке, причем указанная дсРНК содержит смысловую цепь и антисмысловую цепь, образующие двухцепочечную область, где смысловая цепь содержит по меньшей мере 15, например, 15, 16, 17, 18, 19 или 20 смежных нуклеотидов, отличаясь не более чем на 0, 1, 2 или 3 нуклеотида от любой из нуклеотидных последовательностей нуклеотидов 574-596; 677-699; 683-705; 699-721; 773-795; 795-817; 1185-1207; 1192-1214; 1202-1224; 1208-1230; 1209-1231; 1210-1232; 1211-1233; 1212-1234; 1213-1233; 1214-1234; 1214-1236; 1215-1237; 1216-1238; 1219-1237; 1219-1241; 1255-1275; 1256-1276; 1257-1275; 1257-1277; 1258-1278; 1259-1279; 1260-1278; 1260-1280; 1261-1281; 1262-1282; 1263-1283; 1264-1282; 1264-1284; 1265-1285; 1267-1285; 1266-1286; 1266-1288; 1267-1285; 1267-1287; 1268-1290; 1269-1289; 1270-1290; 1271-1291; 1272-1292; 1273-1293; 1274-1294; 1275-1295; 1631-1653; 1738-1760; 1739-1761; 1740-1760; 1740-1762; 1741-1763; 1744-1766; 1746-1766; 1750-1772; 1751-1773; 1752-1774; 1753-1775; 1754-1776; 1755-1777; 1756-1778; 1757-1779; 1758-1780; 1759-1781; 1760-1782; 1761-1783; 1762-1782; 1762-1784; 1763-1785; 1764-1786; 1765-1787; 1766-1786; 1766-1788; 1767-1787; 1768-1788; 1767-1789; 1769-1789; 1770-1788; 1770-1790; 1771-1791; 1772-1792; 1815-1837; 1901-1923, 1920-1942, 1923-1945; 2112-2130; 2169-2191; 2171-2191; 2176-2198, 2177-2199, 2178-2200; 2179-2201, 2180-2202; 2181-2203; 2183-2205; 2184-2206; 2186-2208; 2239-2261; 2241-2263; 2242-2264; или 2243-2265 нуклеотидной последовательности SEQ ID NO:1, и антисмысловая цепь содержит по меньшей мере 19 смежных нуклеотидов из соответствующей нуклеотидной последовательности SEQ ID NO:2.

В одном варианте осуществления антисмысловая цепь содержит по меньшей мере



15, например, 15, 16, 17, 18, 19 или 20 смежных нуклеотидов, отличаясь не более чем на 0, 1, 2 или 3 нуклеотида от любой из антисмысловых цепей нуклеотидной последовательности дуплекса, выбранного из группы, состоящей из AD-517197.2; AD-517258.2; AD-516748.2; AD-516851.2; AD-519351.2; AD-519754.2; AD-519828.2; AD-520018.2; AD-520035.2; AD-520062.2; AD-520064.2; AD-520065.2; AD-520067.2; AD-75289.2; AD-520069.2; AD-520099.2; AD-67575.7; AD-520101.2; AD-67605.7; AD-1193323.1; AD-1193344.1; AD-1193350.1; AD-1193365.1; AD-1193379.1; AD-1193407.1; AD-1193421.1; AD-1193422.1; AD-1193429.1; AD-1193437.1; AD-1193443.1; AD-1193471.1; и AD-1193481.1.

В одном варианте осуществления антисмысловая цепь содержит по меньшей мере 15, например, 15, 16, 17, 18, 19 или 20 смежных нуклеотидов, отличаясь не более чем на 0, 1, 2 или 3 нуклеотида от любой из антисмысловых цепей нуклеотидной последовательности дуплекса, выбранного из группы, состоящей из AD-519345.1, AD-519346.1, AD-519347.1, AD-67554.7, AD-519752.3, AD-1010731.1, AD-1010732.1, AD-519343.1, AD-519344.1, AD-519349.1, AD-519350.1, AD-519753.2, AD-519932.1, AD-519935.2, AD-520018.6, AD-517837.2, AD-805635.2, AD-519329.2, AD-520063.2, AD-519757.2, AD-805631.2, AD-516917.2, AD-516828.2, AD-518983.2, AD-805636.2, AD-519754.7, AD-520062.2, AD-67575.9, AD-518923.3, AD-520053.4, AD-519667.2, AD-519773.2, AD-519354.2, AD-520060.4, AD-520061.4, AD-1010733.2, AD-1010735.2; AD-1193323.1; AD-1193344.1; AD-1193350.1; AD-1193365.1; AD-1193379.1; AD-1193407.1; AD-1193421.1; AD-1193422.1; AD-1193429.1; AD-1193437.1; AD-1193443.1; AD-1193471.1; и AD-1193481.1.

В одном аспекте настоящее изобретение относится к двухцепочечной агент рибонуклеиновой кислоты (дсРНК) для ингибирования экспрессии белка 3, содержащего пататин-подобный фосфолипазный домен (PNPLA3), в клетке, причем дсРНК содержит смысловую цепь и антисмысловую цепь, образующие двухцепочечную область, где смысловая цепь содержит по меньшей мере 15 последовательных нуклеотидов, отличаясь не более чем на три нуклеотида от любой из последовательностей нуклеотидов 1200-1250, 1205-1250, 11210-1250, 1200-1245, 1200-1240, 1200-1235, 1200-1237, 1205-1237, 1210-1232, 1212-1237, 1212-1234, 1250-1300, 1255-1300, 1260-1300, 1250-1295, 1250-1390, 1250-1285, 1250-1282, 1255-1282, 1260-1282, 1262-1300, 1262-1295, 1262-1390, и 1262-1282 SEQ ID NO: 1, и антисмысловая цепь содержит по меньшей мере 15 смежных нуклеотидов от основного соответствующая нуклеотидная последовательность SEQ ID NO:2.

В одном варианте осуществления антисмысловая цепь содержит по меньшей мере 15, например, 15, 16, 17, 18, 19 или 20 смежных нуклеотидов, отличаясь не более чем на 0, 1, 2 или 3 нуклеотида от любой из антисмысловых цепей нуклеотидной последовательности дуплекса, выбранного из группы, состоящей из AD-519345, AD-1193350, AD-1193365, AD-1193437 и AD-519347.

В одном варианте осуществления антисмысловая цепь содержит по меньшей мере 15, например, 15, 16, 17, 18, 19 или 20 смежных нуклеотидов, отличаясь не более чем на 0,

1, 2 или 3 нуклеотида от любой из антисмысловых цепей нуклеотидной последовательности дуплекса AD-519351.

В одном варианте осуществления антисмысловая цепь содержит по меньшей мере 15, например, 15, 16, 17, 18, 19 или 20 смежных нуклеотидов, отличаясь не более чем на 0, 1, 2 или 3 нуклеотида от любой из антисмысловых цепей нуклеотидной последовательности дуплекса AD-1193350.

В одном варианте осуществления антисмысловая цепь содержит по меньшей мере 15, например, 15, 16, 17, 18, 19 или 20 смежных нуклеотидов, отличаясь не более чем на 0, 1, 2 или 3 нуклеотида от любой из антисмысловых цепей нуклеотидной последовательности дуплекса AD-1193365.

В одном варианте осуществления антисмысловая цепь содержит по меньшей мере 15, например, 15, 16, 17, 18, 19 или 20 смежных нуклеотидов, отличаясь не более чем на 0, 1, 2 или 3 нуклеотида от любой из антисмысловых цепей нуклеотидной последовательности дуплекса AD-1193437.

В одном варианте осуществления антисмысловая цепь содержит по меньшей мере 15, например, 15, 16, 17, 18, 19 или 20 смежных нуклеотидов, отличаясь не более чем на 0, 1, 2 или 3 нуклеотида от любой из антисмысловых цепей нуклеотидной последовательности дуплекса AD-519347.

В одном варианте осуществления средство на основе дсРНК содержит по меньшей мере один модифицированный нуклеотид.

В одном варианте осуществления по существу все нуклеотиды смысловой цепи; по существу все нуклеотиды антисмысловой цепи содержат модификацию; или по существу все нуклеотиды смысловой цепи и по существу все нуклеотиды антисмысловой цепи содержат модификацию.

В одном варианте осуществления все нуклеотиды смысловой цепи содержат модификацию; все нуклеотиды антисмысловой цепи содержат модификацию; или все нуклеотиды смысловой цепи и все нуклеотиды антисмысловой цепи содержат модификацию.

В одном варианте осуществления по меньшей мере один из модифицированных нуклеотидов выбран из группы, включающей: дезоксинуклеотид, 3'-концевой дезокситиминовый (dT) нуклеотид, 2'-О-метилмодифицированный нуклеотид, 2'- фтор-модифицированный нуклеотид, 2'-дезокси-модифицированный нуклеотид, заблокированный нуклеотид, разблокированный нуклеотид, конформационно-ограниченный нуклеотид, ограниченный этиловый нуклеотид, абазический нуклеотид, 2'-амино-модифицированный нуклеотид, 2'-О- аллил-модифицированный нуклеотид, 2'-С-алкил-модифицированный нуклеотид, 2'-гидроксимодифицированный нуклеотид, 2'-метоксиэтилмодифицированный нуклеотид, 2'-О-алкилмодифицированный нуклеотид, морфолинонуклеотид, фосфорамидат, нуклеотид с неприродным основанием, нуклеотид, модифицированный тетрагидропираном, нуклеотид, модифицированный 1,5-ангидрогекситолом, нуклеотид, модифицированный циклогексенилом, нуклеотид,

содержащий фосфоротиоатную группу, нуклеотид, содержащий метилфосфонатную группу, нуклеотид, содержащий 5'-фосфат, нуклеотид, содержащий миметик 5'-фосфата, термически дестабилизирующий нуклеотид, нуклеотид, модифицированный гликолем (GNA), нуклеотид, модифицированный 2'-O-(N-метилацетамидом); и комбинации таковых.

В одном варианте модификации нуклеотидов выбирают из группы, состоящей из LNA, HNA, CeNA, 2'-метоксиэтила, 2'-O-алкила, 2'-O-аллила, 2'-C-аллила, 2'-O-аллила, 2'-фтор, 2'-дезоксид, 2'-гидроксил и гликоль; и комбинации таковых.

В одном варианте осуществления по меньшей мере один из модифицированных нуклеотидов выбран из группы, состоящей из дезоксинуклеотида, 2'-O-метилмодифицированного нуклеотида, 2'-фтормодифицированного нуклеотида, 2'-дезоксимодифицированного нуклеотида, модифицированного гликолем (GNA), например, Ggn, Cgn, Tgn или Agn, и винилфосфонатного нуклеотида; и комбинации таковых.

В другом варианте осуществления по меньшей мере одна из модификаций нуклеотидов представляет собой термически дестабилизирующую модификацию нуклеотида.

В одном варианте осуществления термически дестабилизирующая модификация нуклеотида выбрана из группы, включающей: абазическую модификацию; мисматч (несовпадение) с противоположным нуклеотидом в дуплексе; и дестабилизирующую модификацию сахара, такую как 2'-дезоксид-модификация, ациклический нуклеотид, разблокированные нуклеиновые кислоты (UNA) и глицериновая нуклеиновая кислота (GNA).

В некоторых вариантах осуществления модифицированный нуклеотид содержит короткую последовательность 3'-концевых дезокситиминовых нуклеотидов (dT).

В некоторых вариантах осуществления модификации нуклеотидов представляют собой модификации 2'-O-метил, GNA и 2'-фтор.

В некоторых вариантах осуществления средство на основе дсРНК дополнительно содержит по меньшей мере одну фосфоротиоатную межнуклеотидную связь. В некоторых вариантах осуществления средство на основе дсРНК содержит 6-8 фосфоротиоатных межнуклеотидных связей. В одном варианте осуществления фосфоротиоатная или метилфосфонатная межнуклеотидная связь находится на 3'-конце одной цепи. Необязательно цепь представляет собой антисмысловую цепь. В другом варианте осуществления цепь представляет собой смысловую цепь. В сходном варианте осуществления фосфоротиоатная или метилфосфонатная межнуклеотидная связь находится на 5'-конце одной цепи. Необязательно цепь представляет собой антисмысловую цепь. В другом варианте осуществления цепь представляет собой смысловую цепь. В другом варианте осуществления фосфоротиоатная или метилфосфонатная межнуклеотидная связь находится как на 5'-, так и на 3'-конце одной цепи. Необязательно цепь представляет собой антисмысловую цепь. В другом варианте осуществления цепь представляет собой смысловую цепь.

Двухцепочечный участок может иметь 19-30 пар нуклеотидов в длину, 19-25 пар нуклеотидов в длину, 19-23 пар нуклеотидов в длину; 23-27 пар нуклеотидов в длину; или 21-23 пары нуклеотидов в длину.

В одном варианте осуществления каждая цепь независимо имеет длину не более 30 нуклеотидов.

В одном варианте осуществления смысловая цепь имеет длину 21 нуклеотид, а антисмысловая цепь имеет длину 23 нуклеотида.

Область комплементарности может иметь не менее 17 нуклеотидов в длину; от 19 до 23 нуклеотидов в длину; или 19 нуклеотидов в длину.

В одном варианте осуществления по меньшей мере одна цепь содержит выступающий 3'-конец по меньшей мере из 1 нуклеотида. В другом варианте осуществления по меньшей мере одна цепь содержит выступающий 3'-конец по меньшей мере из 2 нуклеотидов.

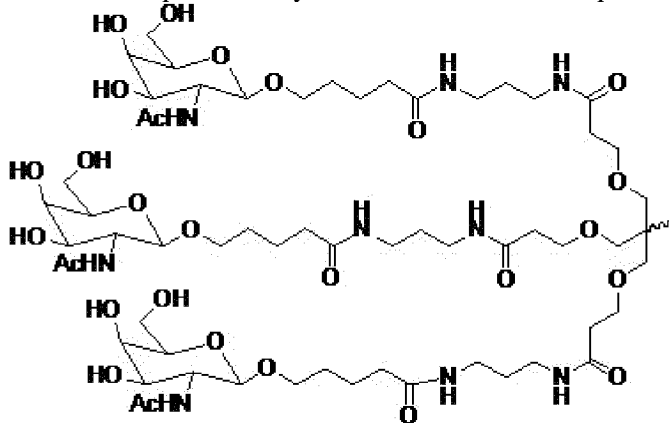
В одном варианте осуществления средство на основе дсРНК дополнительно содержит лиганд.

В одном варианте осуществления лиганд конъюгирован с 3'-концом смысловой цепи средства на основе дсРНК.

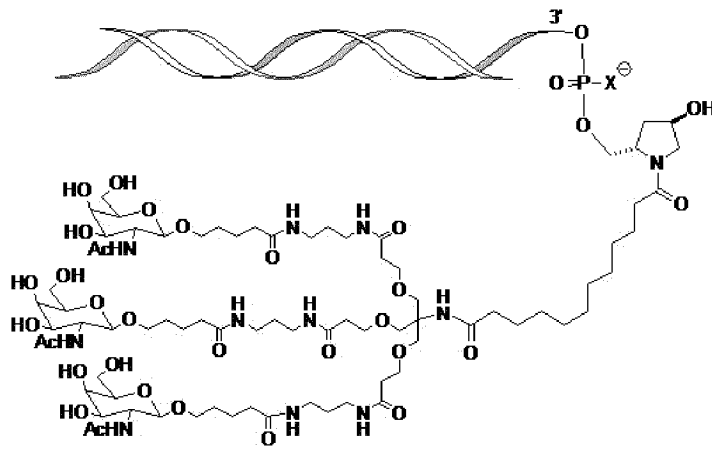
В одном варианте осуществления лиганд представляет собой производное N-ацетилгалактозамина (GalNAc).

В одном варианте осуществления лиганд представляет собой одно или более производных GalNAc, присоединенных через одновалентный, двухвалентный или трехвалентный разветвленный линкер.

В одном варианте осуществления лиганд представляет собой



В одном варианте осуществления средство на основе дсРНК конъюгирован с лигандом, как показано на следующей схеме



где X представляет собой O или S.

В одном варианте осуществления X представляет собой O.

В одном варианте осуществления средство на основе дсРНК дополнительно содержит по меньшей мере одну фосфоротиоатную или метилфосфонатную межнуклеотидную связь.

В одном варианте осуществления фосфоротиоатная или метилфосфонатная межнуклеотидная связь находится на 3'-конце одной цепи, например, антисмысловой цепи или смысловой цепи.

В другом варианте осуществления фосфоротиоатная или метилфосфонатная межнуклеотидная связь находится на 5'-конце одной цепи, например, антисмысловой цепи или смысловой цепи.

В одном варианте осуществления фосфоротиоатная или метилфосфонатная межнуклеотидная связь находится как на 5'-, так и на 3'-конце одной цепи. В одном варианте осуществления цепь представляет собой антисмысловую цепь.

В одном варианте осуществления пара оснований в положении 1 от 5'-конца антисмысловой цепи дуплекса представляет собой пару оснований AU.

Настоящее изобретение также относится к клеткам, содержащим любой из средств на основе дсРНК по изобретению, и фармацевтическим композициям, содержащим любой из средств на основе дсРНК по изобретению.

Фармацевтическая композиция по изобретению может включать средство на основе дсРНК в незабуференном растворе, например, физиологическом растворе или воде, или фармацевтическая композиция по изобретению может включать средство на основе дсРНК в буферном растворе, например, в буферном растворе, содержащем ацетат, цитрат, проламин, карбонат или фосфат или любую комбинацию таковых; или фосфатно-солевым буфере (PBS).

В одном аспекте настоящее изобретение относится к способу ингибирования экспрессии гена белка 3, содержащего пататин-подобный фосфолипазный домен (PNPLA3), в клетке. Способ включает приведение клетки в контакт с любой из дсРНК по изобретению или любой из фармацевтических композиций по изобретению, что тем самым ингибирует экспрессию гена PNPLA3 в клетке.

В одном варианте осуществления клетка находится внутри субъекта, например, человека, например, субъекта, страдающего расстройством, ассоциированным с белком 3, содержащим пататин-подобной фосфолипазный домен (PNPLA3), где расстройство/заболевание, ассоциируемое с белком 3, содержащим пататин-подобной фосфолипазный домен (PNPLA3), выбрано из группы, состоящей из жировой дистрофии печени (стеатоза), неалкогольного стеатогепатита (NASH), цирроза печени, накопления жира в печени, воспаления печени, гепатоцеллюлярного некроза, фиброза печени, ожирения или неалкогольной жировой дистрофии печени (NAFLD).

В одном варианте осуществления контакт клетки с средством на основе дсРНК ингибирует экспрессию PNPLA3 по меньшей мере на 50%, 60%, 70%, 80%, 90% или 95%.

В одном варианте ингибирование экспрессии PNPLA3 снижает уровень белка PNPLA3 в сыворотке субъекта по меньшей мере на 50%, 60%, 70%, 80%, 90% или 95%.

В одном аспекте настоящее изобретение относится к способу лечения субъекта, страдающего расстройством, при котором было бы полезно снижение экспрессии белка 3, содержащего пататин-подобной фосфолипазный домен (PNPLA3). Способ включает введение субъекту терапевтически эффективного количества любой из дсРНК по изобретению или любой из фармацевтических композиций по изобретению, что приводит к излечению субъекта, страдающего расстройством, для которого было бы полезно снижение экспрессии PNPLA3.

В другом аспекте настоящее изобретение относится к способу предотвращения по меньшей мере одного симптома у субъекта, страдающего заболеванием, при котором было бы полезно снижение экспрессии белка 3, содержащего пататин-подобной фосфолипазный домен (PNPLA3). Способ включает введение субъекту профилактически эффективного количества любой из дсРНК по изобретению или любой из фармацевтических композиций по изобретению, что приводит к предотвращению по меньшей мере одного симптома у субъекта, страдающего расстройством, при котором было бы полезно снижение экспрессии PNPLA3.

В одном варианте осуществления расстройство представляет собой расстройство, связанное с связанным с белком 3, содержащим пататин-подобной фосфолипазный домен (PNPLA3), например, где расстройство, связанное с белком 3, содержащим пататин-подобной фосфолипазный домен (PNPLA3), выбрано из группы, включающей жировую дистрофию печени (стеатоз), неалкогольный стеатогепатит (NASH), цирроз печени, накопление жира в печени, воспаление печени, гепатоцеллюлярный некроз, фиброз печени, ожирение или неалкогольную жировую болезнь печени (NAFLD).

В одном варианте осуществления расстройство, связанное с PNPLA3, представляет собой NAFLD.

В одном варианте осуществления субъектом является человек.

В одном варианте осуществления средство на основе дсРНК вводят субъекту в дозе от приблизительно 0,01 мг/кг до приблизительно 50 мг/кг.

В одном варианте осуществления средство на основе дсРНК вводят субъекту

подкожно.

В одном варианте осуществления способы по изобретению включают дополнительное определение уровня PNPLA3 в образце(ах) субъекта.

В одном варианте осуществления уровень белка 3, содержащего пататин-подобный фосфолипазный домен (PNPLA3) в образце(ах) субъекта, представляет собой уровень белка 3, содержащего пататин-подобный фосфолипазный домен (PNPLA3) в образце(ах) крови или сыворотки.

В некоторых вариантах осуществления способы по изобретению дополнительно включают введение субъекту дополнительного терапевтического средства. В другом варианте осуществления дополнительное терапевтическое средство выбрано из группы, включающей: ингибитор HMG-CoA -редуктазы, фибрат, секвестрант желчных кислот, никотиновую кислоту (ниацин), антитромбоцитарное средство, ингибитор ангиотензинпревращающего фермента, антагонист рецептора ангиотензина II, ингибитор ацил-КоА холестеринацетилтрансферазы (ACAT), ингибитор абсорбции холестерина, ингибитор белка-переносчика эфира холестерина (СЕТР), ингибитор микросомального белка-переносчика триглицеридов (МТТР), модулятор холестерина, модулятор желчных кислот, агонист рецептора активируемого пролиферацией пероксисом (PPAR), генную терапию, комплексный васкулярный протектант, ингибитор гликопротеина IIb/IIIa, аспирин или аспириноподобное соединение, ингибитор IВАТ, ингибитор скваленсинтазы, ингибитор моноцитарного хемоаттрактантного белка (MCP)-I или рыбий жир.

Настоящее изобретение также относится к наборам, включающим любую из дсРНК по изобретению или любую из фармацевтических композиций по изобретению, и, необязательно, инструкции по применению таковых.

### **ЭКВИВАЛЕНТЫ**

Специалисты в данной области определяют или смогут установить, используя не более чем рутинные эксперименты, многие эквиваленты конкретным вариантам осуществления и способам, описанным в настоящем изобретении. Такие эквиваленты охватываются объемом следующей формулы изобретения.

**ИЗМЕНЕННАЯ ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ**

1. Двухцепочечная рибонуклеиновая кислота (дсРНК) для ингибирования экспрессии белка 3, содержащего пататин-подобный фосфолипазный домен (PNPLA3), в клетке, где указанная дсРНК содержит смысловую цепь и антисмысловую цепь, образующие двухцепочечную область, причем антисмысловая цепь содержит по меньшей мере 19 смежных нуклеотидов, отличаясь не более чем на 3 нуклеотида от

нуклеотидной последовательности 5'-AUUGGCAUCAAAUGAAGGGUACGU-3' (SEQ ID NO:1258),

причем все нуклеотиды смысловой цепи и все нуклеотиды антисмысловой цепи содержат нуклеотидную модификацию, и

причем по меньшей мере одна цепь конъюгирована с лигандом.

2. дсРНК по п.1, где антисмысловая цепь содержит по меньшей мере 19 смежных нуклеотидов, отличающихся не более чем на 2 нуклеотида от нуклеотидной последовательности 5'-AUUGGCAUCAAAUGAAGGGUACGU-3' (SEQ ID NO:1258).

3. дсРНК по п.1 или 2, где антисмысловая цепь содержит по меньшей мере 19 смежных нуклеотидов, отличающихся не более чем на 1 нуклеотид от нуклеотидной последовательности 5'-AUUGGCAUCAAAUGAAGGGUACGU-3' (SEQ ID NO:1258).

4. Средство на основе дсРНК по любому из пп. 1-3, где смысловая цепь содержит по меньшей мере 19 смежных нуклеотидов, отличающихся не более чем на 3 нуклеотида от нуклеотидной последовательности 5'-GUACCCUUCAUUGAUGCCAAU-3' (SEQ ID NO:1168).

5. Средство на основе дсРНК по любому из пп. 1-4, где смысловая цепь содержит по меньшей мере 19 смежных нуклеотидов, отличающихся не более чем на 2 нуклеотида от нуклеотидной последовательности 5'-GUACCCUUCAUUGAUGCCAAU-3' (SEQ ID NO:1168).

6. дсРНК по любому из пп. 1-5, где смысловая цепь содержит по меньшей мере 19 смежных нуклеотидов, отличающихся не более чем на 1 нуклеотид от нуклеотидной последовательности 5'-GUACCCUUCAUUGAUGCCAAU-3' (SEQ ID NO:1168).

7. Средство на основе дсРНК по любому из пп. 1-6, где по меньшей мере одна из модификаций нуклеотидов выбрана из группы, состоящей из модификации дезоксинуклеотида, модификации 3'-



концевого дезокситиминового (dT) нуклеотида, модификации 2'-концевого дезокситиминового (dT) нуклеотида, модификации 2'-O-метилнуклеотида, модификации 2'-фторнуклеотида, модификации 2'-дезоксинуклеотида, модификации заблокированного нуклеотида, модификации разблокированного нуклеотида, модификации конформационно ограниченного нуклеотида, модификации ограниченного этилового нуклеотида, модификации абазического нуклеотида, модификации 2'-амино-модифицированного нуклеотида, модификации 2'-O-аллил-нуклеотида, модификации 2'-C-алкил-нуклеотида, модификации 2'-гидроксил-нуклеотида, модификации 2'-метоксиэтил-нуклеотида, модификации 2'-O-алкил-нуклеотида, модификации морфолинонуклеотида, модификации фосфорамидата, модификации нуклеотида с неприродным основанием, модификации тетрагидропиранин-нуклеотида, модификации 1,5-ангидрогекситол-нуклеотида, модификации циклогексенил-нуклеотида, модификации нуклеотида, содержащего фосфоротиоатную группу, модификации нуклеотида, содержащего метилфосфонатную группу, модификации нуклеотида, содержащего 5'-фосфат, модификации нуклеотида, содержащего имитатор 5'-фосфата, модификации термодестабилизирующего нуклеотида, модификации гликоль-нуклеотида (GNA) и модификации 2-O-(N-метилацетамид)-нуклеотида и их комбинаций.

8. дсРНК по любому из пп. 1-6, где по меньшей мере одна из модификаций нуклеотидов выбрана из группы, состоящей из модификации дезоксинуклеотида, модификации 2'-O-метил-нуклеотида, модификации 2'-фтор-нуклеотида, модификации 2'-дезоксинуклеотида, модификации гликоль-нуклеотида (GNA) и модификации винилфосфонатного нуклеотида и их комбинаций.

9. дсРНК по любому из пп. 1-6, где по меньшей мере одна из модификаций нуклеотидов представляет собой термически дестабилизирующую модификацию нуклеотида.

10. дсРНК по п.9, в которой термически дестабилизирующая модификация нуклеотида выбрана из группы, включающей абазическую модификацию; мисматч (несовпадение) с противоположным нуклеотидом в дуплексе; и дестабилизирующую модификацию сахара, 2'-дезоксимодификацию, ациклический нуклеотид, разблокированные нуклеиновые

кислоты (UNA) и глицериновую нуклеиновую кислоту (GNA).

11. Средство на основе дсРНК по любому из пп. 1-10, где длина двухцепочечной области составляет 19-30 пар нуклеотидов.

12. Средство на основе дсРНК по п.11, где длина двухцепочечной области составляет 19-25 пар нуклеотидов.

13. Средство на основе дсРНК по п.11, где длина двухцепочечной области составляет 19-23 пары нуклеотидов.

14. Средство на основе дсРНК по п.11, где длина двухцепочечной области составляет 23-27 пар нуклеотидов.

15. Средство на основе дсРНК по п.11, где длина двухцепочечной области составляет 21-23 пары нуклеотидов.

16. Средство на основе дсРНК по любому из пп. 1-15, где каждая цепь независимо имеет длину не более 30 нуклеотидов.

17. Средство на основе дсРНК по любому из пп. 1-16, где длина смысловой цепи составляет 21 нуклеотид, а длина антисмысловой цепи составляет 23 нуклеотида.

18. Средство на основе дсРНК по любому из пп. 1-17, где по меньшей мере одна цепь содержит 3'-выступ по меньшей мере из 1 нуклеотида.

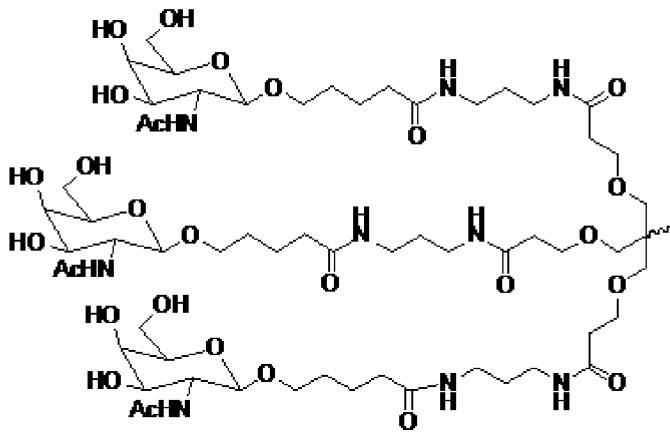
19. Средство на основе дсРНК по любому из пп. 1-17, где по меньшей мере одна цепь содержит 3'-выступ по меньшей мере из 2 нуклеотидов.

20. Средство на основе дсРНК по любому из пп. 1-19, где лиганд конъюгирован с 3'-концом смысловой цепи средства на основе дсРНК.

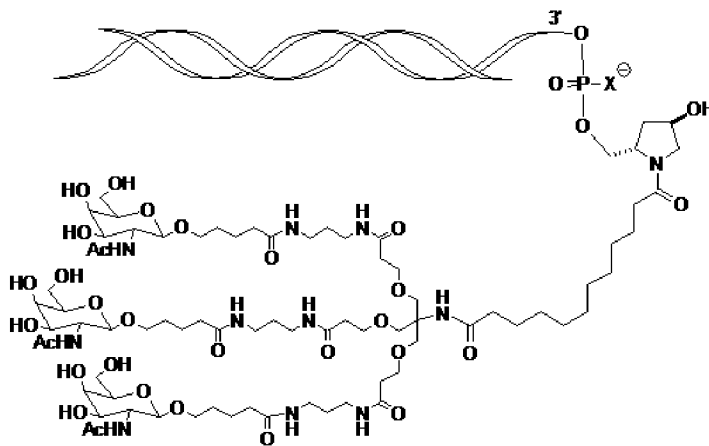
21. Средство на основе дсРНК по п.20, где лиганд представляет собой производное N-ацетилгалактозамина (GalNAc).

22. Средство на основе дсРНК по п.20 или 21, где лиганд представляет собой одно или более производных GalNAc, присоединенных через одновалентный, двухвалентный или трехвалентный разветвленный линкер.

23. Средство на основе дсРНК по п.21 или 22, где лиганд представляет собой



24. Средство на основе dsРНК по п.23, где средство на основе dsРНК конъюгировано с лигандом, как показано на следующей схеме:



и где X представляет собой O или S.

25. Средство на основе dsРНК по п.24, где X представляет собой O.

26. Средство на основе dsРНК по любому из пп. 1-25, где средство на основе dsРНК дополнительно содержит по меньшей мере одну фосфотиоатную или метилфосфонатную межнуклеотидную связь.

27. Средство на основе dsРНК по п.26, в котором фосфотиоатная или метилфосфонатная межнуклеотидная связь находится на 3'-конце одной из цепей.

28. Средство на основе dsРНК по п.27, где цепь представляет собой антисмысловую цепь.

29. Средство на основе dsРНК по п.27, где цепь представляет собой смысловую цепь.

30. Средство на основе dsРНК по п.26, в котором фосфотиоатная или метилфосфонатная межнуклеотидная связь находится на 5'-конце одной из цепей.

31. Средство на основе dsРНК по п.30, где цепь представляет

собой антисмысловую цепь.

32. Средство на основе дсРНК по п.30, где цепь представляет собой смысловую цепь.

33. Средство на основе дсРНК по п.26, где в фосфоротиоатной или метилфосфонатной межнуклеотидной связи находится как на 5'-, так и на 3'-конце одной из цепей.

34. Средство на основе дсРНК по п.33, где цепь представляет собой антисмысловую цепь.

35. Клетка, содержащая средство на основе дсРНК по любому из пп. 1-34.

36. Фармацевтическая композиция для ингибирования экспрессии гена белка 3, кодирующего пататин-подобный фосфолипазный домен (PNPLA3), содержащая средство на основе дсРНК по любому из пп. 1-34.

37. Способ ингибирования *in vitro* экспрессии гена белка 3, кодирующего пататин-подобный фосфолипазный домен (PNPLA3), в клетке, включающий приведение клетки в контакт со средством на основе дсРНК по любому из пп. 1-34 или фармацевтической композицией по п.36, что тем самым ингибирует экспрессию гена PNPLA3 в клетке.

38. Способ по п.37, где контактирование клетки с средством на основе дсРНК ингибирует экспрессию PNPLA3 по меньшей мере на 50%, 60%, 70%, 80%, 90% или 95%.

39. Способ лечения субъекта, страдающего расстройством, при котором может помочь снижение экспрессии белка 3, кодирующего пататин-подобный фосфолипазный домен (PNPLA3), включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества средства на основе дсРНК по любому из пп. 1-34 или фармацевтической композиции по п.36, что тем самым способствует излечению субъекта, страдающего расстройством, при котором было бы полезно снижение экспрессии PNPLA3.

40. Способ по п.39, где расстройство представляет собой PNPLA3-ассоциированное расстройство.

41. Способ по п.40, где расстройство, ассоциированное с PNPLA3, выбрано из группы, состоящей из жировой дистрофии печени (стеатоза), неалкогольного стеатогепатита (NASH), цирроза печени, накопления жира в печени, воспаления печени, гепатоцеллюлярного

некроза, фиброза печени, ожирения и неалкогольной жировой болезни печени (NAFLD).

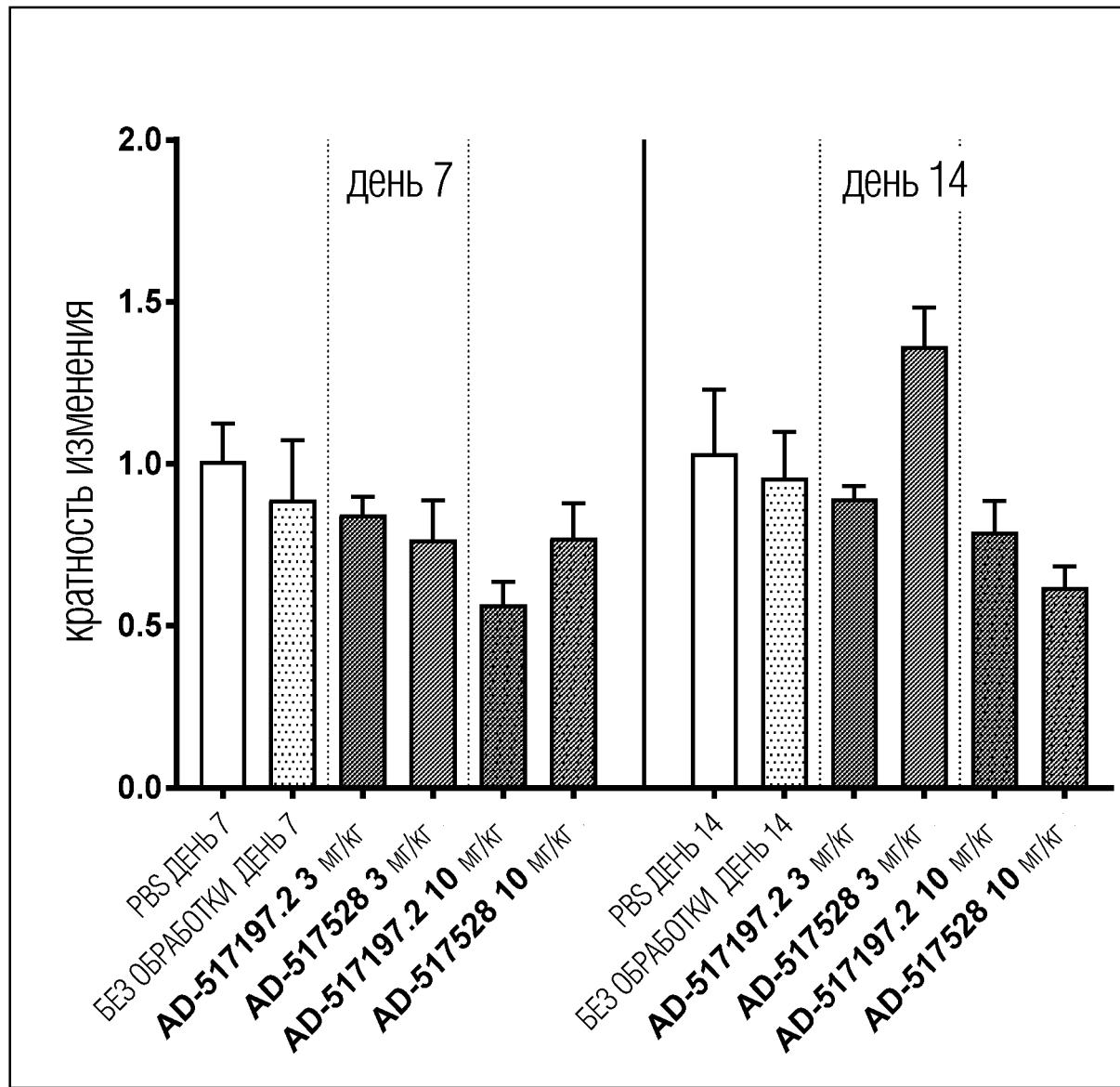
42. Способ по п.40, где субъектом является человек.

43. Способ по любому из пп. 39-42, где средство на основе дсРНК вводят субъекту подкожно.

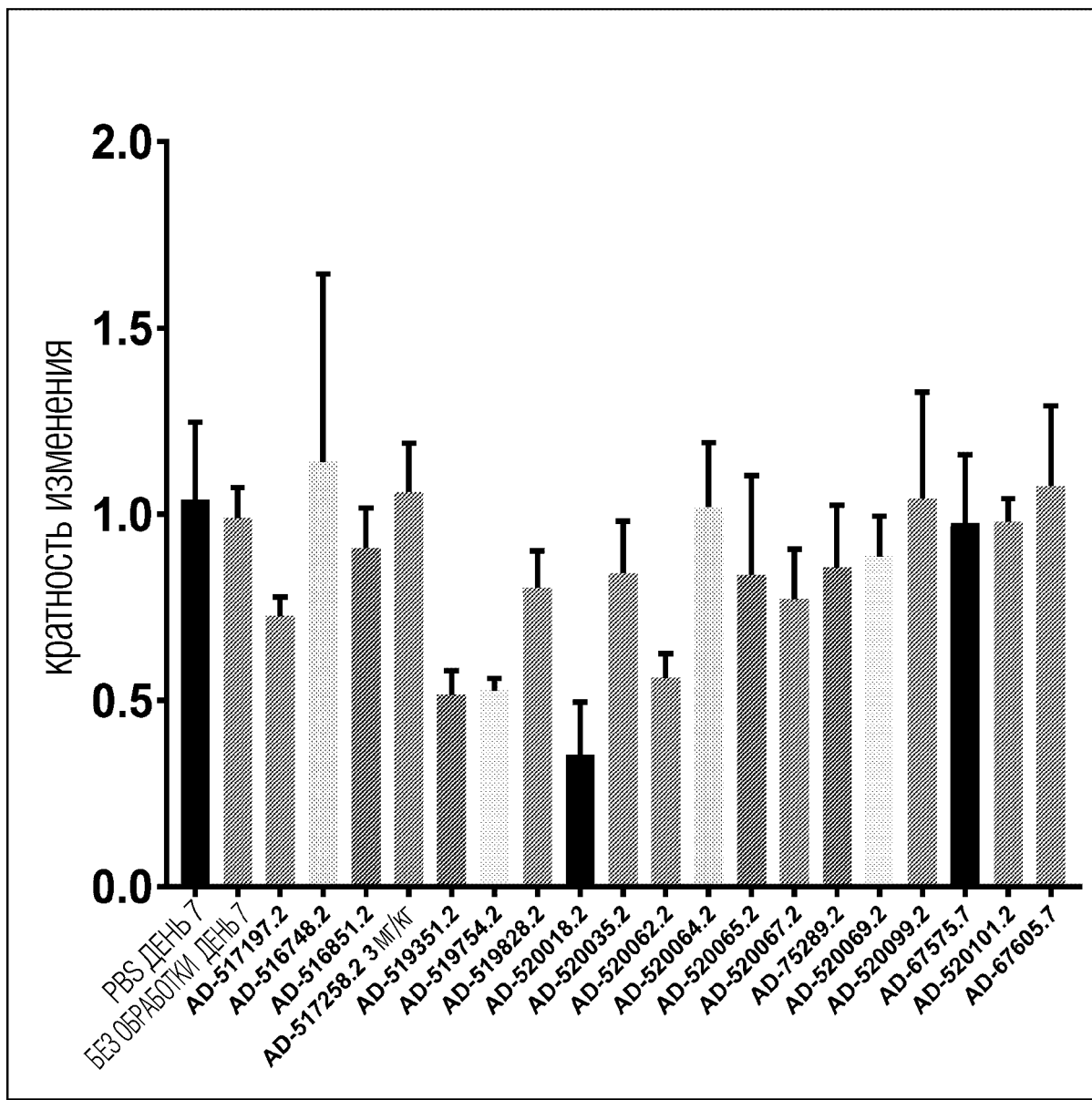
44. Способ по любому из пп. 39-43, дополнительно включающий введение субъекту дополнительного терапевтического средства для лечения PNPLA3-ассоциированного расстройства.

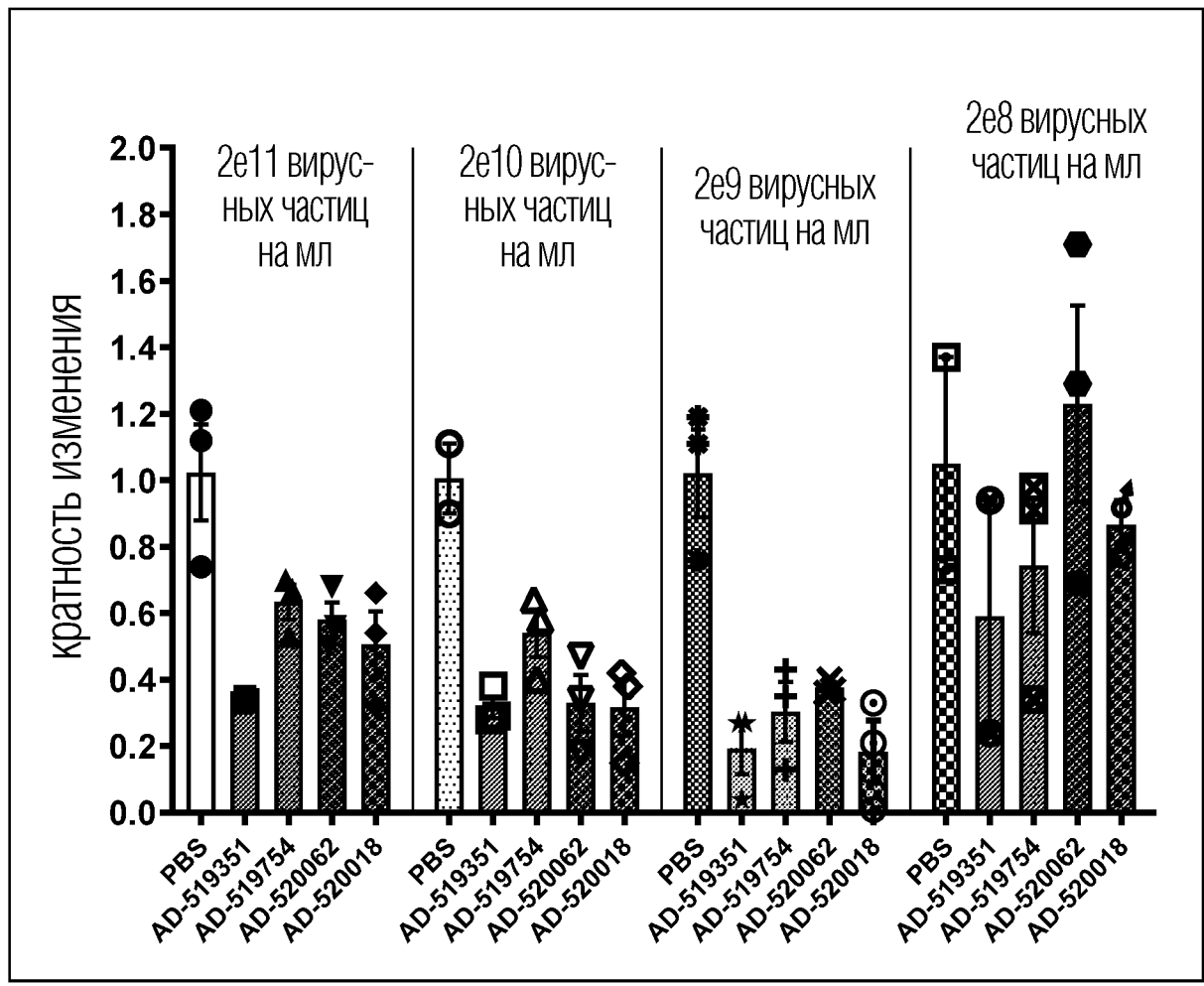
По доверенности

ФИГ. 1



ФИГ. 2

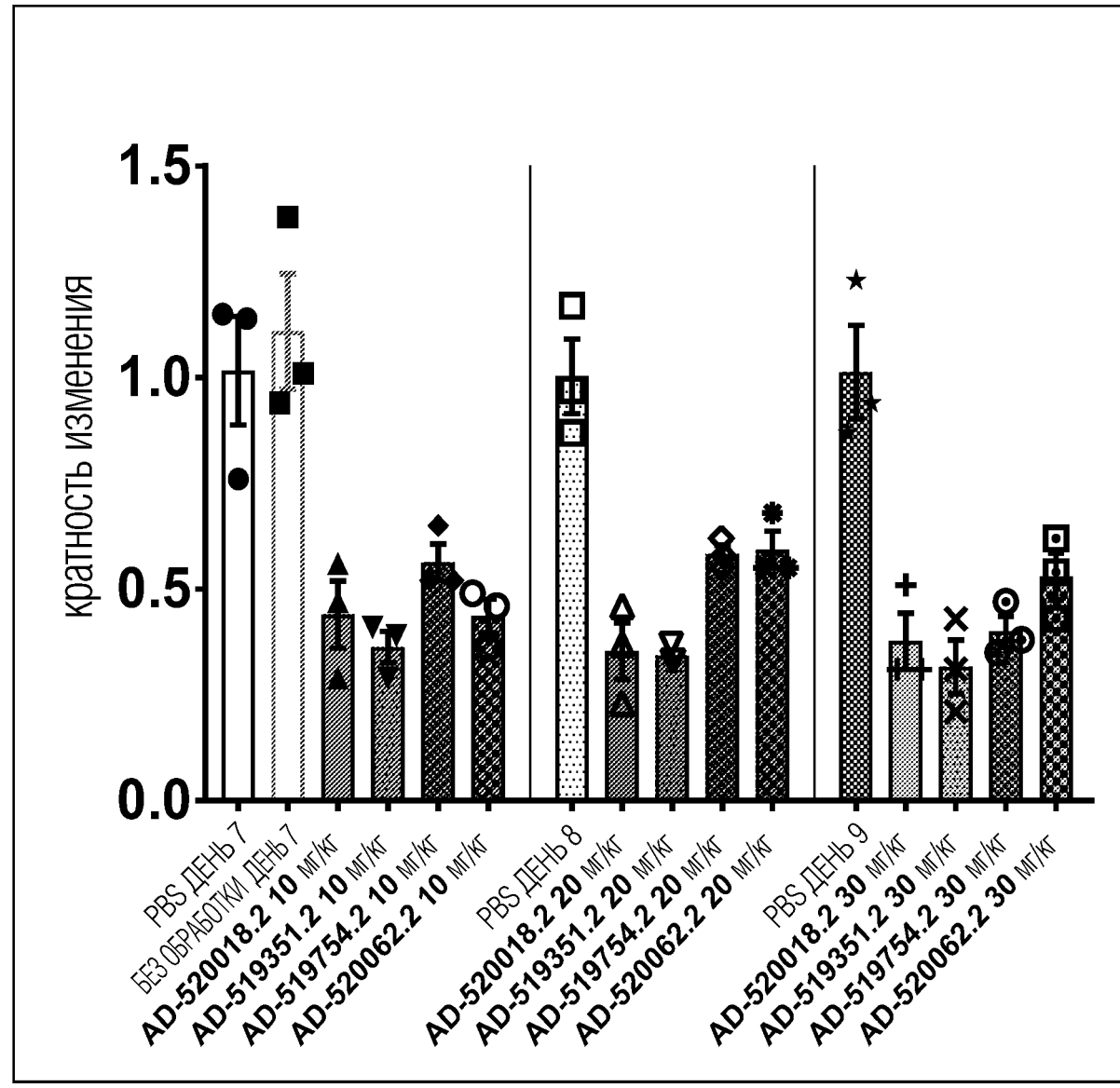


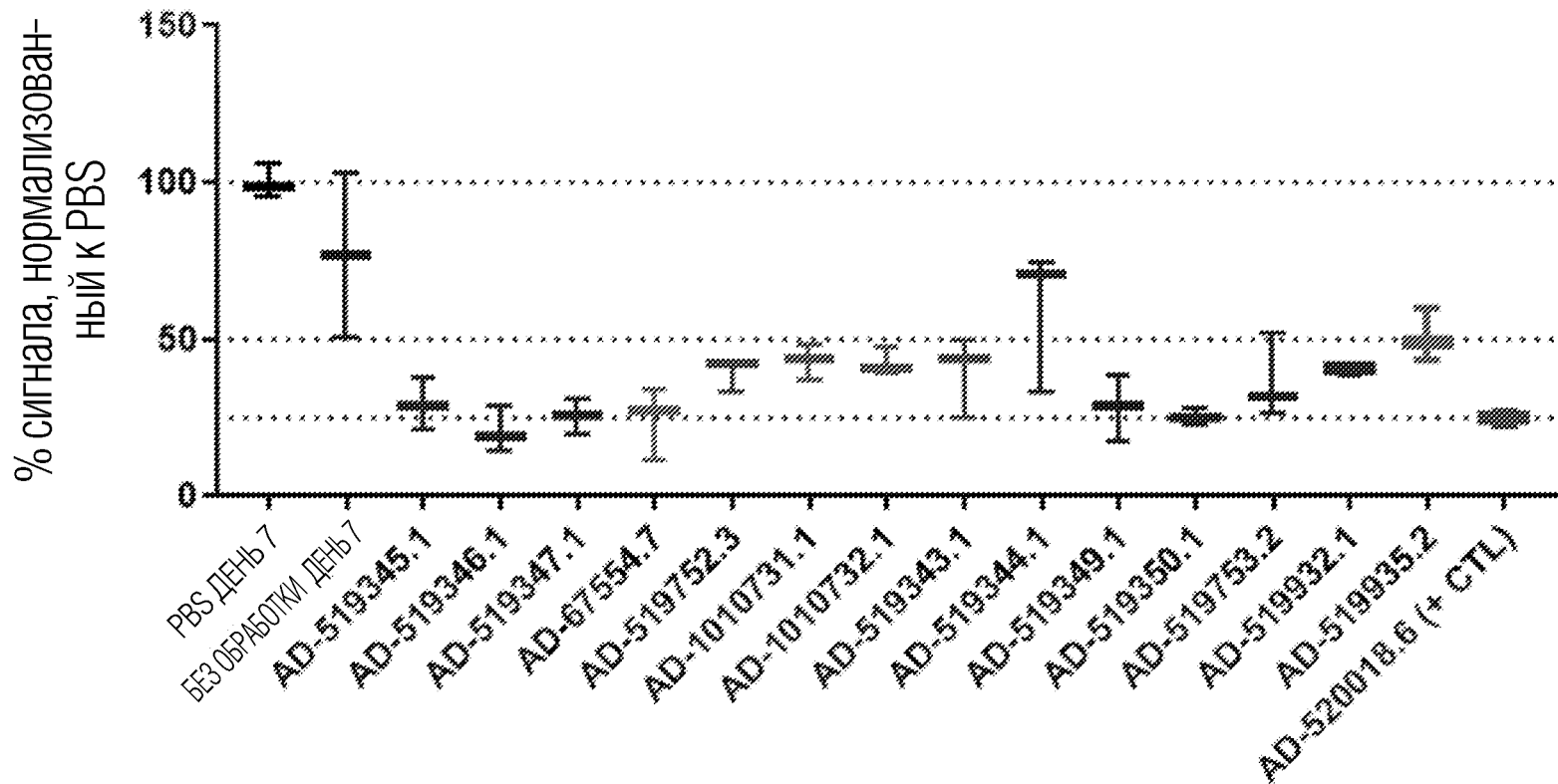


ФИГ. 3

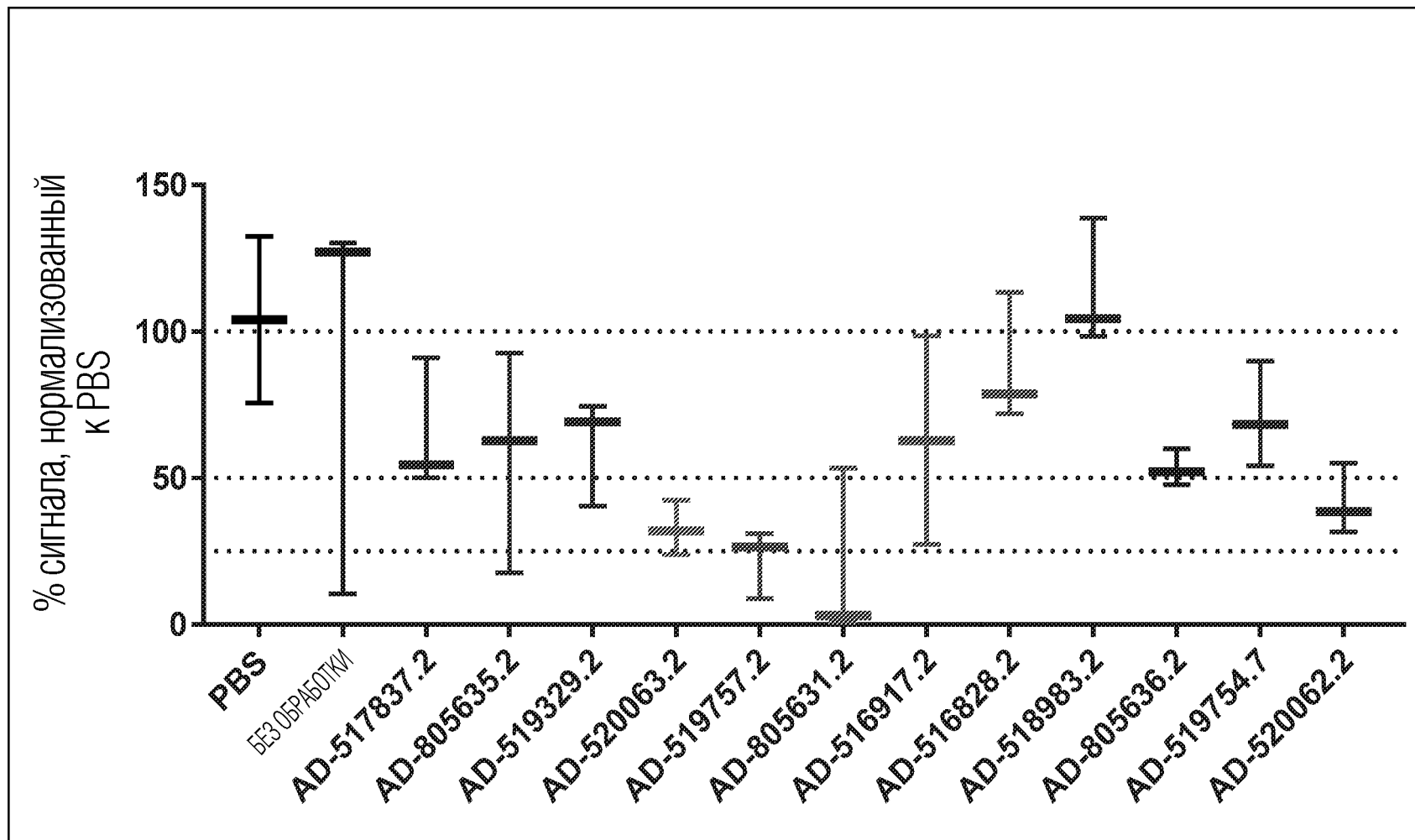


ФИГ. 4

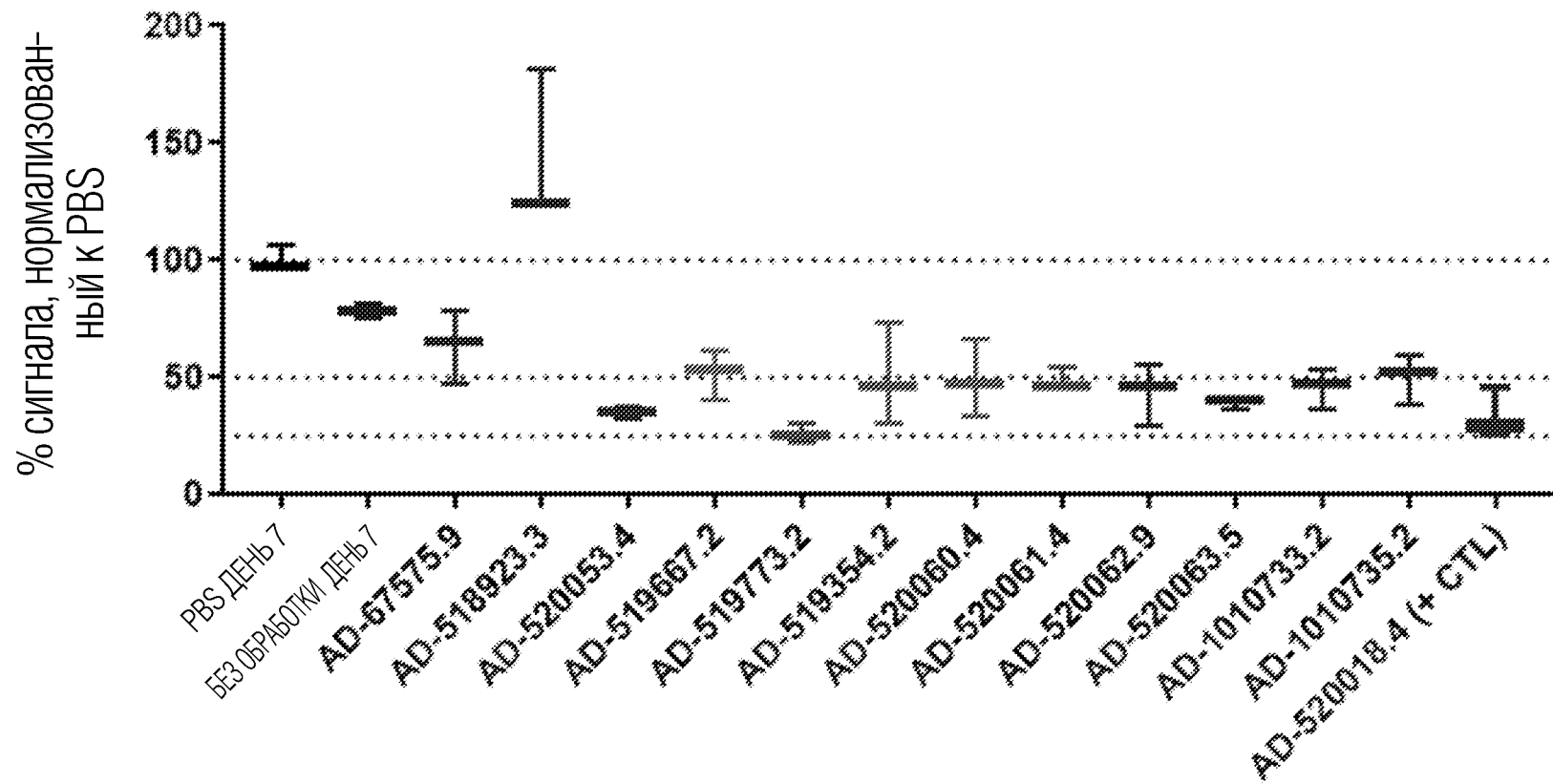




ФИГ. 5



ФИГ. 6



ФИГ. 7

**ОТЧЕТ О ПАТЕНТНОМ ПОИСКЕ**

(статья 15(3) ЕАПК и правило 42 Патентной инструкции к ЕАПК)

Номер евразийской заявки:

**202491295****А. КЛАССИФИКАЦИЯ ПРЕДМЕТА ИЗОБРЕТЕНИЯ:**

МПК:

**C12N 15/113** (2010.01)  
**A61K 31/713** (2006.01)  
 A61P 1/16 (2006.01)

СПК:

**C12N 15/1137****Б. ОБЛАСТЬ ПОИСКА:**

A61K 31/713, C12N 15/113, A61P 1/16

Электронная база данных, использовавшаяся при поиске (название базы и, если возможно, используемые поисковые термины)  
 Espacenet, EAPATIS, Google, PubMed, Библиотека ЕАПО ДНК, PatSeqFinder, Nucleotide BLAST.

**В. ДОКУМЕНТЫ, СЧИТАЮЩИЕСЯ РЕЛЕВАНТНЫМИ**

Категория*	Ссылки на документы с указанием, где это возможно, релевантных частей	Относится к пункту №
A	WO 2016130806 A2 (ALNYLAM PHARMACEUTICALS, INC.) 2016-08-18 Реферат, Описание: Пример 4, рисунок 1.	1 - 44
A	US 10036024 B2 (PURDUE RESEARCH FOUNDATION) 2018-07-31 Реферат, Описание: пример 2, 4.	1 - 44
A	LINDÉN D, et al. Pnpla3 silencing with antisense oligonucleotides ameliorates nonalcoholic steatohepatitis and fibrosis in Pnpla3 I148M knock-in mice. MOL METAB, 2019, Vol.22, p.49-61. doi:10.1016/j.molmet.2019.01.013 Аннотация, Рисунок 1	1 - 44

 последующие документы указаны в продолжении графы

\* Особые категории ссылочных документов:

«А» - документ, определяющий общий уровень техники

«D» - документ, приведенный в евразийской заявке

«E» - более ранний документ, но опубликованный на дату подачи евразийской заявки или после нее

«O» - документ, относящийся к устному раскрытию, экспонированию и т.д.

"P" - документ, опубликованный до даты подачи евразийской заявки, но после даты испрашиваемого приоритета"

«Т» - более поздний документ, опубликованный после даты приоритета и приведенный для понимания изобретения

«X» - документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска, порочащий новизну или изобретательский уровень, взятый в отдельности

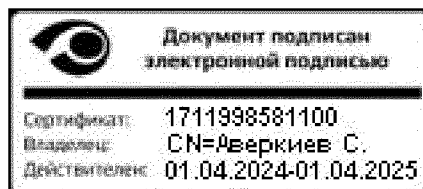
«Y» - документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска, порочащий изобретательский уровень в сочетании с другими документами той же категории

«&amp;» - документ, являющийся патентом-аналогом

«L» - документ, приведенный в других целях

Дата проведения патентного поиска: 30 сентября 2024 (30.09.2024)

Уполномоченное лицо:  
 Начальник Управления экспертизы



С.Е. Аверкиев